

Expression von verschiedenen Somatostatinrezeptoren und
des Chemokinrezeptors CXCR4 bei
gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Neoplasien:
Vergleich zwischen verschiedenen Tumorlokalisationen
sowie zwischen Primärtumoren und Metastasen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der

Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Tina Träger

geboren am 17.03.1983 in Weimar

Gutachter

1. apl. Prof. Dr. med. habil. Amelie Lupp, Jena
2. PD Dr. med. Daniel Kämmerer, Bad Berka
3. Assoc. – Prof. PD Dr. med. Alexander Haug, Wien

Tag der öffentlichen Verteidigung: 04.12.2018

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erklärung
5-FU	5-Fluorouracil
5-JÜLR	5-Jahres-Überlebens-Rate
AC	Adenylatcyclase
AEC	Aminoethylcarbazol
AJCC	American Joint Committee on Cancer
AK	Antikörper
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
CgA	Chromogranin A
CHD	Carcinoid Heart Disease
CRH	Corticotropin Releasing Hormon
CT	Computertomographie
CUP	„Cancer of Unknown Primary“
CXCL12	CXC-Motiv-Chemokin-Ligand 12
CXCR4	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4
CXCR7	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 7
DAG	Diacylglycerol
EGF	Epidermal Growth Factor
ENETS	European Neuroendocrine Tumor Society
FDG	Fluordesoxyglukose
FDG-PET	¹⁸ F-Desoxyglukose-Positronen-Emissions-Tomographie
GDP	Guanosindiphosphat
GEP-NEC	Gastroenteropankreatisches neuroendokrines Karzinom
GEP-NEN	Gastroenteropankreatische neuroendokrine Neoplasie
GEP-NET	Gastroenteropankreatischer neuroendokriner Tumor
GH	Growth Hormone, Wachstumshormon
GRK	G-Protein-gekoppelte-Rezeptor-Kinase
GTP	Guanosintriphosphat
HWZ	Halbwertszeit
IFN- α	Interferon- α

IFN- γ	Interferon- γ
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IL-6	Interleukin 6
IP ₃	Inositoltriphosphat
IRS	Immunreaktiver Score
KCl	Kaliumchlorid
MAPK	Mitogen aktivierte Protein-Kinase
MHC	Major Histocompatibility Complex
MRT	Magnetresonanztomographie
MTS	Metastase(n)
NaCl	Natriumchlorid
NEC	Neuroendokrines Karzinom
NEN	Neuroendokrine Neoplasie
NET	Neuroendokriner Tumor
NSE	Neuronenspezifische Enolase
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PET/CT	Positronen-Emissions-Tomographie kombiniert mit Computertomographie
PET/MRT	Positronen-Emissions-Tomographie kombiniert mit Magnetresonanztomographie
PIP ₂	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PKA	Proteinkinase A
PLC	Phospholipase C
P-NEN	Pankreatische Neuroendokrine Neoplasie
PRRT	Peptidrezeptor-vermittelte Radionuklidtherapie
PT	Primärtumor
PYK2	Protein-Tyrosin-Kinase 2
RSA	Rinderserumalbumin
SDF-1	Stromal Cell-Derived Factor 1
SEER	Surveillance, Epidemiology and End Result
SIRT	Selektive interne Radiotherapie
SPECT	Single-Photon-Emissions-Computer-Tomographie

SRS	Somatostatinrezeptorszintigraphie
SSA	Somatostatin-Analoga
SST	Somatostatin
SST-14	Somatostatin-14
SST-28	Somatostatin-28
SSTR	Somatostatinrezeptor
STZ	Streptozotocin
TACE	Transarterielle Chemoembolisation
TAE	Transarterielle Embolisation
TNM	Tumor-Node-Metastasis
TRH	Thyreotropin Releasing Hormon
TSH	Thyreoidea-stimulierendes Hormon
TTP	Time to tumor progression
UICC	Union Internationale Contre le Cancer
VIP	Vasoaktives Intestinales Polypeptid
WHO	World Health Organization

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung.....	1
2	Einleitung.....	4
2.1	Gastroenteropankreatische neuroendokrine Neoplasien.....	4
2.1.1	Definition und Klassifikation	4
2.1.2	Epidemiologie, Lokalisation und Prognose	10
2.1.3	Klinik.....	12
2.1.4	Diagnostik.....	13
2.1.4.1	Laborchemische Diagnostik	14
2.1.4.2	Pathologische Diagnostik.....	14
2.1.4.3	Immunhistochemische Diagnostik	16
2.1.4.4	Bildgebende Diagnostik	17
2.1.5	Therapie	20
2.1.5.1	Chirurgische Therapie	20
2.1.5.2	Chemotherapie.....	22
2.1.5.3	Strahlentherapie.....	23
2.1.5.4	Embolisationstherapie.....	23
2.1.5.5	Peptidradiorezeptorthherapie	24
2.1.5.6	Biotherapie.....	26
2.2	Somatostatin	27
2.3	Somatostatinrezeptoren.....	28
2.3.1	Aufbau und Struktur von Somatostatinrezeptoren.....	28
2.3.2	Signaltransduktion der Somatostatinrezeptoren.....	28
2.3.3	Vorkommen der Somatostatinrezeptoren.....	30
2.3.4	Somatostatinrezeptoren und gastroenteropankreatische neuroendokrine Neoplasien.....	31
2.4	Chemokine.....	32
2.4.1	Aufbau und Klassifikation der Chemokine	32
2.4.2	Das Chemokin SDF-1.....	33
2.5	Chemokinrezeptoren	34

2.5.1	Der Chemokinrezeptor CXCR4.....	34
2.5.1.1	Signaltransduktion des Chemokinrezeptors CXCR4	35
2.5.1.2	Bedeutung des Chemokinrezeptors CXCR4 bei der Entstehung von malignen Neoplasien.....	36
2.5.1.3	Vorkommen des CXCR4 bei neuroendokrinen Neoplasien	37
2.5.1.4	CXCR4-Nachweis mit dem ⁶⁸ Ga-CPCR4-2-PET/CT	37
3	Ziele der Arbeit.....	39
4	Materialien und Methoden	40
4.1	Materialien	40
4.1.1	Tumorproben und Anfertigung der Paraffinschnitte	40
4.1.2	Substanzen für die Immunhistochemie	40
4.1.3	Lösungen und Puffer	41
4.1.4	Geräte und sonstige Materialien.....	43
4.2	Antikörper	44
4.3	Immunhistochemie.....	46
4.3.1	Darstellung der Methode	46
4.3.2	Durchführung der immunhistochemischen Färbungen	47
4.3.2.1	Entparaffinieren der Schnitte und Antigen-Demaskierung	47
4.3.2.2	Antikörperbindung und Färbung	49
4.3.2.3	Gegenfärbung mit Hämatoxylin	50
4.3.2.4	Eindecken der Präparate.....	50
4.4	Auswertung	51
4.4.1	Immunhistochemie	51
4.4.2	Statistik.....	51
5	Ergebnisse.....	53
5.1	Allgemeine Patientendaten.....	53
5.2	Klinische Daten	54
5.2.1	Primärtumorlokalisation und Metastasierung.....	54
5.2.2	Grading.....	56
5.3	Immunhistochemie.....	57

5.3.1	Ki-67-Index	57
5.3.2	Häufigkeitsverteilung der Somatostatinrezeptor-Subtypen.....	58
5.3.3	Lichtmikroskopische Auswertung.....	59
5.3.3.1	Ausmaß der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in allen Primärtumoren und in allen Metastasen aller Lokalisationen	62
5.3.3.2	Ausmaß der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in Primärtumoren des Pankreas und in den entsprechenden Metastasen.....	63
5.3.3.3	Ausmaß der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in Primärtumoren des Duodenums und Ileums und in den entsprechenden Metastasen.....	65
5.3.3.4	Ausmaß der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in Primärtumoren des Kolons und Rektums und in den entsprechenden Metastasen	66
5.3.3.5	Ausmaß der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in den verschiedenen Primärtumorlokalisationen und in den zugehörigen Metastasen zusammengenommen	67
5.3.3.6	Vergleich der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression zwischen den verschiedenen Primärtumorlokalisationen	70
5.3.3.7	Vergleich der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression zwischen den Metastasen der verschiedenen Primärtumorlokalisationen	72
5.3.3.8	SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in Primärtumoren und Metastasen in Abhängigkeit vom Grading.....	75
5.3.3.9	SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in den Primärtumoren in Abhängigkeit vom Grading.....	78
5.3.3.10	SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in den Metastasen in Abhängigkeit vom Grading	80
5.4	Überleben.....	83
5.4.1	Zusammenhang zwischen der Lokalisation des Primärtumors und dem Überleben	83
5.4.2	Zusammenhang zwischen der Expression der Somatostatinrezeptoren und des CXCR4 und dem Überleben.....	83
6	Diskussion	86
6.1	Allgemeine Patientendaten.....	86
6.1.1	Alters- und Geschlechtsverteilung	86

6.1.2	Tumorlokalisation und Metastasierung.....	87
6.1.3	Grading der Primärtumore.....	88
6.2	Immunhistochemische Auswertung.....	88
6.2.1	Häufigkeiten der Somatostatinrezeptor-Subtypen	88
6.2.2	Unterschiede in der SSTR1-5-, Ki-67- und CXCR4-Expression zwischen den verschiedenen Primärtumorlokalisationen und den entsprechenden Metastasen	90
6.2.3	Unterschiede in der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in Abhängigkeit vom Grading.....	92
6.2.4	CXCR4-Expression in gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Neoplasien	95
6.2.5	Überleben.....	96
7	Schlussfolgerungen	98
	Literaturverzeichnis.....	100
	Anhang.....	110
	Ehrenwörtliche Erklärung	110
	Danksagung.....	111
	Veröffentlichungen.....	112

1 Zusammenfassung

Gastroenteropankreatische neuroendokrine Neoplasien (GEP-NEN) sind hinsichtlich ihrer Funktionalität und ihres biologischen Verhaltens eine sehr heterogene Gruppe von Tumoren. Es handelt sich hierbei um eine seltene Tumorentität mit einer Inzidenz in Deutschland von 2-4/100.000/Jahr und einer 5-Jahres-Überlebensrate (5-JÜLR) von 82%, wobei die individuellen Verläufe stark variieren können. Zusätzlich korreliert die 5-JÜLR mit dem Ki-67-basierten Grading der neuroendokrinen Neoplasien.

Somatostatinrezeptoren (SSTR) gehören zur Gruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren und konnten bereits in verschiedenen humanen Geweben wie im Gehirn, in der Hypophyse, im Gastrointestinaltrakt, im Pankreas, in den Nieren und Nebennieren, in der Schilddrüse, im Gefäßendothel und in den Immunzellen identifiziert werden. Aber auch in verschiedenen Tumorentitäten, vor allem in endokrinen und neuroendokrinen Tumoren, wie Hypophysenadenomen, Schilddrüsenkarzinomen, Insulinomen, Glukagonomen und Phäochromozytomen, konnte eine SSTR-Expression nachgewiesen werden. SSTRs werden insbesondere in gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Neoplasien (GEP-NEN) und deren Metastasen exprimiert. Diese SSTR-Überexpression stellt eine entscheidende molekulare Basis für klinische Untersuchungen, für symptomatische Therapien, die in-vivo-Diagnostik und die Radiotherapie dieser Tumore dar und leistet Hilfe bei der prognostischen Einschätzung.

Neben den SSTRs wurde in der vorliegenden Arbeit auch der Chemokinrezeptor CXCR4 untersucht. Dieser G-Protein-gekoppelte Rezeptor gehört zu den am besten erforschten Chemokinrezeptoren, da er eine wichtige Rolle als Co-Rezeptor beim Eintritt des HI-Virus in die Zelle spielt. Weiterhin übernimmt er eine entscheidende Funktion im Rahmen der Metastasierung von Tumoren, die durch seinen Liganden, dem Chemokin SDF-1, vermittelt wird. Durch die Interaktion zwischen dem SDF-1 und dem CXCR4 kommt es zu einer Förderung des Tumorwachstums und zu einer Steigerung der Tumorangiogenese. Bisher konnte bereits bei verschiedenen malignen Erkrankungen eine CXCR4-Expression nachgewiesen werden, wie beispielsweise bei Brustkrebs, Prostatakrebs, akuter myeloblastischer Leukämie, Non-Hodgkin-Lymphomen, kleinzelligen Bronchialkarzinomen, Melanomen oder Gliomen.

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, GEP-NEN auf ihre SSTR- und CXCR4-Expression hin zu untersuchen. Hierzu wurden 126 verschiedene Tumorproben von 40 Patienten mit histologisch nachgewiesenem GEP-NEN, die vom Labor für Zytologie und Pathologie in Bad Berka zur Verfügung gestellt wurden, mit spezifischen Antikörpern auf eine Expression der SSTR1 bis 5 und des CXCR4 immunhistochemisch untersucht und quantitativ mittels des Immunreaktiven Scores nach Remmele und Stegner (IRS) ausgewertet.

Bezüglich der Häufigkeitsverteilung der SSTR-Subtypen war der SSTR2A der am häufigsten vorkommende Subtyp in allen untersuchten GEP-NEN, gefolgt vom SSTR5, dem SSTR3, dem SSTR4 und dem SSTR1. In Bezug auf das Ausmaß der SSTR1-5-Expression in pankreatischen Neoplasien im Vergleich zu den Metastasen, konnte eine nicht signifikante, jedoch starke Tendenz zu einem Unterschied in der SSTR1- und SSTR3-Expression, mit höheren Werten bei den Metastasen, nachgewiesen werden. Weiterhin zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der SSTR5-Expression, mit ebenfalls höheren Werten bei den Metastasen. Auch in der immunhistochemischen Analyse der Primärtumoren des Duodenums und des Ileums mit den dazugehörigen Metastasen konnte ein deutlicher, jedoch grenzwertig nicht signifikanter Unterschied in der SSTR2A-Expression, allerdings hier mit niedrigen Werten bei den Metastasen verzeichnet werden. Erwartungsgemäß konnten wir hochsignifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Grading-Klassen in der Ki-67-Expression nachweisen, mit steigenden Werten mit zunehmender Malignität der Neoplasien. Weiterhin zeigten sich zwischen den verschiedenen Grading-Klassen signifikante Unterschiede in der SSTR2A-Expression, mit abnehmenden Werten mit zunehmender Malignität. In der CXCR4-Expression konnten ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Grading-Klassen verzeichnet werden, mit steigenden Werten mit zunehmender Entdifferenzierung der Tumore.

Insgesamt konnten wir in unseren Ergebnissen die dominierende SSTR2A-Expression in allen untersuchten Tumorproben sowie in den verschiedenen Primärtumorlokalisationen in den gut (G1) bis mäßig gut (G2) differenzierten GEP-NEN belegen. Somit ist die SSTR2A-Positivität der GEP-NEN für eine funktionelle Bildgebung und mit Hinblick auf die Durchführung einer SSTR-basierten Radionuklidtherapie von großer Bedeutung.

Bezüglich der CXCR4-Expression in GEP-NEN konnten wir aufzeigen, dass mit zunehmender Entdifferenzierung (G1 zu G3) der GEP-NEN es zu einem Anstieg der CXCR4-Expression kommt. Somit könnten Patienten mit einem hochproliferativen gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Karzinom (GEP-NEC) von einer Therapie mit CXCR4-Inhibitoren oder von neuen diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten in der molekularen Bildgebung und in der Radiorezeptorthherapie profitieren.

2 Einleitung

2.1 Gastroenteropankreatische neuroendokrine Neoplasien

2.1.1 Definition und Klassifikation

Gastroenteropankreatische neuroendokrine Neoplasien bilden eine heterogene Gruppe von Tumoren, die sich von Zellen des neuroendokrinen System ableiten. Sie können funktionell aktiv (die Fähigkeit zur Hormonproduktion besitzen) oder inaktiv sein und in der immunhistochemischen Färbung die Proteine Synaptophysin und Chromogranin A (CgA) exprimieren (Arnold 2008, Fottner und Weber 2012a).

Die häufige Änderung der Klassifikation und Nomenklatur der neuroendokrinen Tumore sorgte in den letzten Jahren für Verwirrung.

1907 führte der Pathologe Siegfried Oberndorfer erstmals den Begriff Karzinoid ein. Er stellte Abweichungen zu anderen intestinalen Karzinomen fest und beschrieb fünf morphologische Charakteristika der Karzinoide: (1) meistens klein und multipel auftretend, (2) das Vorliegen der Zellen in undifferenzierten Verbänden, (3) keine Tendenz zur Infiltration in das umliegende Gewebe, (4) nicht metastasierend und (5) ein langsames Wachstum, ohne eine bedeutsame Größe zu erreichen und deshalb von harmloser Natur (Oberndorfer 1907).

Die erste Klassifikation der Karzinoide nach embryonalen Gesichtspunkten erfolgte im Jahre 1963 durch Williams und Sandler. Die Einteilung erfolgte anhand der Lokalisation in 3 Gruppen, in „Foregut“- (Respirationstrakt, Magen, Duodenum, oberes Jejunum, Pankreas), „Midgut“- (unteres Jejunum, Ileum, Appendix, rechtes Kolon) und „Hindgut“-Karzinoide (linkes Kolon, Rektum) (Williams und Sandler 1963). Da diese Einteilung nur anhand von embryogenetischen Aspekten durchgeführt worden war und keine Rückschlüsse auf das biologische Verhalten bezüglich Hormonproduktion, Klinik und Wachstum ermöglichte, wurde diese Klassifikation schließlich wieder verworfen (Arnold 1997).

1980 wurde durch die World Health Organization (WHO) eine weitere Klassifikation der neuroendokrinen Neoplasien (NEN) des Gastrointestinaltrakts eingeführt. Unter dem Begriff „Karzinoid“ bezeichnete man alle Tumore des diffusen neuroendokrinen Zellsystems. Da anhand dieser Klassifikation nur Karzinoide entstehen können, wo sich auch ein endokrines Zellsystem befindet, wurden endokrine Pankreaskarzinome, das medulläre

Schilddrüsenkarzinom, das kleinzellige Bronchialkarzinom, das Paragangliom und die Merkelzell-Tumoren der Haut nicht mit betrachtet (Arnold 1997). Da auch diese Klassifikation hinsichtlich der biologischen Unterschiede der Tumorentitäten zu ungenau war, wurde auch diese Klassifikation nachfolgend revidiert (Capella et al. 1995).

1994 wurde der Begriff „Karzinoid“ von Capella und Klöppel durch „neuroendokriner Tumor“ ersetzt. In diesem Klassifikationssystem wurde die histologische Differenzierung, Größe und Lokalisation des Tumors, die Ausdehnung in das umliegende Gewebe, die Hormonproduktion und die Angioinvasion berücksichtigt, wodurch erstmals eine prognostische Einschätzung der neuroendokrinen Tumore ermöglicht wurde. Der Terminus „neuroendokriner Tumor“ umfasst das gesamte Spektrum vom klassischen Karzinoid mit langsamem Wachstum und guter Prognose bis hin zu den malignen undifferenzierten Tumoren (Capella et al. 1995).

Im Jahre 2000 erschien eine revidierte, zweite WHO-Klassifikation der neuroendokrinen Tumore. Hier werden die GEP-NEN in gut differenzierte endokrine Tumore (Karzinoid), gut differenzierte endokrine Karzinome (malignes Karzinoid, Ki-67-Index >2-5%) und schlecht differenzierte endokrine Karzinome (kleinzellige Karzinome, Ki-67-Index >15%) untergliedert. Entscheidende Kriterien für das Auftreten von Metastasen und somit für die prognostische Beurteilung sind die Lokalisation und die Größe des Tumors, die histologische Differenzierung, die Angioinvasion und die endokrine Funktion des Tumors (Tilling et al. 2002, Klöppel 2003). Durch die Möglichkeit der immunhistochemischen Darstellung des Ki-67-Antigens kann, wie erstmals 1984 von Gerdes et al. beschrieben, die sog. „Wachstumsfraktion“ eines Gewebes markiert und anhand der Anzahl der Ki-67-positiven Zellen in Prozent, die sogenannte „Proliferationsrate“, die Wachstumsgeschwindigkeit eines Gewebes, bestimmt werden (Gerdes et al. 1984, Brown und Gatter 1990).

2006 entwickelte die European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS) einen Entwurf für die Klassifikation der Vorderdarm-Tumore unter Verwendung des Tumor-Node-Metastasis (TNM)-Systems und des Gratings. Diese Leitlinien sollten zur Diagnostik, zur Therapie und zur besseren prognostischen Beurteilung von GEP-NEN dienen (Rindi et al. 2006). Die TNM-Klassifikation für neuroendokrine Tumore (NET) des Mittel- und Hinterdarms erfolgte im Jahre 2007 (Rindi et al. 2007).

Seit 2010 ist die aktuelle WHO-Klassifikation bindend. Die Basis dieser Klassifikation ist, dass alle NEN das Potenzial zum malignen Verhalten besitzen, dieses jedoch von ihrer histologischen Differenzierung, Tumorgöße, proliferativen Aktivität und Assoziation mit Syndromen bestimmt wird. Die Einteilung nach der histologischen Differenzierung und der proliferativen Aktivität wurde beibehalten. Andere onkologische Parameter wie die Lokalisation des Tumors, die Tumorgöße, die Tumorausdehnung und die Angioinvasion werden jetzt in der TNM-Stadieneinteilung erfasst. Die TNM-Klassifikation und die Staging-Einteilung von neuroendokrinen Neoplasien sind in den Tabellen 2, 3 und 4 dargestellt. Die beiden Gruppen, hoch differenzierter neuroendokriner Tumor (benigne) und hoch differenziertes neuroendokrines Karzinom (niedrig maligne), werden in der neuen Klassifikation als neuroendokriner Tumor zusammengefasst und anhand von Grading (G1 oder G2) und Staging weiter unterteilt. Er kann als G1-NET dem Karzinoid gleichgesetzt werden. Unter dem Terminus neuroendokrines Karzinom (NEC) werden alle schlecht differenzierten NEN zusammengefasst, die bezüglich der Proliferation G3-Tumoren entsprechen. Ein Vergleich der WHO-Klassifikationen über die Zeit ist in der Tabelle 1 dargestellt. Eine Ergänzung der Klassifikation von neuroendokrinen Neoplasien (NEN) erfolgt durch eine lokalisationsbezogene TNM-Stadieneinteilung nach ENETS oder UICC (Union Internationale Contre le Cancer)/AJCC (American Joint Committee on Cancer) (Anlauf et al. 2011, Klöppel und Scherübl 2011). Die vorher erwähnten Klassifikationen erlauben, das Metastasierungsrisiko eines individuellen GEP-NET und damit auch die Prognose und die Behandlungsoptionen abzuschätzen (Arnold et al. 2013).

Tabelle 1: WHO-Klassifikation neuroendokriner Neoplasien (Anlauf et al. 2011)

WHO 1980	WHO 2000	WHO 2010
Karzinoid	Hoch differenzierter neuroendokriner Tumor	Neuroendokriner Tumor G1 (Karzinoid)
	Hoch differenziertes neuroendokrines Karzinom	Neuroendokriner Tumor G2
	Gering differenziertes neuroendokrines Karzinom	(Klein- oder großzelliges) neuroendokrines Karzinom G3

In der 7. Auflage der UICC-TNM-Klassifikation übernimmt die UICC viele Lokalisationen der Tumore für die TNM-Klassifikationen von der ENETS. Allerdings gibt es Unterschiede beim

Pankreas und der Appendix. Dementsprechend gibt es für das Pankreas und die Appendix zwei TNM-Klassifikationen. Der Unterschied zwischen den beiden Klassifikationssystemen liegt in der Definition der T-Stadien von neuroendokrinen Tumoren (Perren et al. 2010).

Tabelle 2: ENETS-TNM-Klassifikation von gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Neoplasien (Perren et al. 2010)

Magen	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	keine Evidenz eines Primärtumors
Tis	In-situ-Tumor/Dysplasie (Durchmesser <0,5 mm)
T1	Invasion von Lamina propria oder Submukosa und Durchmesser ≤1 cm
T2	Invasion der Muscularis propria oder Subserosa oder Durchmesser >1 cm
T3	Tumor durchbricht Serosa
T4	Invasion von benachbarten Organen
Duodenum	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	keine Evidenz eines Primärtumors
T1	Invasion von Mukosa oder Submukosa und Durchmesser <1 cm
T2	Invasion der Muscularis propria oder Durchmesser >1 cm
T3	Invasion von Pankreas, Retroperitoneum oder Subserosa
T4	Invasion von Peritoneum oder anderen Organen
Pankreas	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	keine Evidenz eines Primärtumors
T1	Tumor beschränkt sich auf das Pankreas, Größe <2 cm
T2	Tumor beschränkt sich auf das Pankreas, Größe 2-4 cm
T3	Tumor beschränkt sich auf das Pankreas, Größe >4 cm oder mit Invasion von Duodenum oder Gallengang
T4	Infiltration großer Gefäße (Truncus coeliacus oder A. mesenterica superior), von Magen, Milz, Kolon, Nebenniere
Ileum	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	keine Evidenz eines Primärtumors
T1	Invasion von Mukosa oder Submukosa und Durchmesser ≤1 cm
T2	Invasion der Muscularis propria oder Durchmesser >1 cm
T3	Invasion der Subserosa
T4	Invasion von Peritoneum oder umgebenden Organen

Appendix

TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	keine Evidenz eines Primärtumors
T1	Durchmesser <1 cm, Invasion von Submukosa oder Muscularis propria
T2	Durchmesser <2 cm, Invasion von Submukosa oder Muscularis propria und/oder minimale (<3 cm) Invasion der Subserosa/Mesoappendix
T3	Durchmesser >2 cm und/oder ausgedehnte (>3 cm) Invasion von Subserosa/Mesoappendix
T4	Invasion von Peritoneum oder umgebender Organe

Kolon und Rektum

TX	Primärtumor nicht beurteilbar
T0	kein Evidenz eines Primärtumors
T1	Invasion von Mukosa oder Submukosa
T1a	Durchmesser <1 cm
T1b	Durchmesser 1–2 cm
T2	Invasion der Muscularis propria oder Durchmesser >2 cm
T3	Invasion von Subserosa, perikolischem oder perirektalem Fettgewebe
T4	Invasion umgebender Organe oder Perforation der Serosa

Alle Lokalisationen

NX	regionäre Lymphknoten nicht beurteilbar
N0	keine Lymphknotenmetastasen
N1	Lymphknotenmetastasen
M0	keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

Tabelle 3: Staging von neuroendokrinen Tumoren des Magens, des Duodenums und des Pankreas (Rindi et al. 2006)

Magen			
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium IIa	T2	N0	M0
Stadium IIb	T3	N0	M0
Stadium IIIa	T4	N0	M0
Stadium IIIb	T-unabhängig	N1	M0
Stadium IV	T-unabhängig	N-unabhängig	M1
Duodenum, Ampulle und proximales Jejunum			
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium IIa	T2	N0	M0
Stadium IIb	T3	N0	M0
Stadium IIIa	T4	N0	M0
Stadium IIIb	T-unabhängig	N1	M0
Stadium IV	T-unabhängig	N-unabhängig	M1
Pankreas			
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium IIa	T2	N0	M0
Stadium IIb	T3	N0	M0
Stadium IIIa	T4	N0	M0
Stadium IIIb	T-unabhängig	N1	M0
Stadium IV	T-unabhängig	N-unabhängig	M1

Tabelle 4: Staging von neuroendokrinen Tumoren des Jejunums und Ileums, der Appendix und des Kolons und Rektums (Rindi et al. 2007)

Distales Jejunum und Ileum			
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium IIa	T2	N0	M0
Stadium IIb	T3	N0	M0
Stadium IIIa	T4	N0	M0
Stadium IIIb	T-unabhängig	N1	M0
Stadium IV	T-unabhängig	N-unabhängig	M1
Appendix			
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium IIa	T2	N0	M0
Stadium IIb	T3	N0	M0
Stadium IIIa	T4	N0	M0
Stadium IIIb	T-unabhängig	N1	M0
Stadium IV	T-unabhängig	N-unabhängig	M1
Kolon und Rektum			
Stadium Ia	T1a	N0	M0
Stadium Ib	T1b	N0	M0
Stadium IIa	T2	N0	M0
Stadium IIb	T3	N0	M0
Stadium IIIa	T4	N0	M0
Stadium IIIb	T-unabhängig	N1	M0
Stadium IV	T-unabhängig	N-unabhängig	M1

2.1.2 Epidemiologie, Lokalisation und Prognose

Im Jahr 2003 wurde das deutsche NET-Register als europaweit erstes nationales Register für die Erfassung von retrospektiven und prospektiven Daten aus NET-Zentren gegründet. Eine Analyse der Daten von 2009 Patienten aus dem Zeitraum von 1999-2010 ergab folgende Resultate:

Neuroendokrine Tumore des Verdauungstrakts zählen zu den seltenen Tumorentitäten und stellen etwa 0,5% aller Malignome dar. Die Inzidenz von neuroendokrinen Tumoren beträgt in Deutschland 2-4 pro 100.000 Einwohner/Jahr, die Geschlechterverteilung zwischen Männern und Frauen ist ausgewogen (52%:48%, m:w) und das durchschnittliche Alter bei der Diagnosestellung liegt bei 56,4 Jahren.

Die Verteilung der neuroendokrinen Tumore ist in Abbildung 1 dargestellt. Die häufigsten Primärtumorlokalisationen sind: das Pankreas mit 34,2%, der Dünndarm (Jejunum/Ileum) mit 25,8%, das Kolon mit 6,9%, der Magen mit 6,5%, das Duodenum mit 4,8% und der Ösophagus mit 0,7% der Fälle. Relativ häufig, mit 12,6% der Fälle, ist die Lokalisation des Primärtumors nicht bekannt (CUP: „Cancer of Unknown Primary“). Bei 1,2% der Patienten standen keine Daten zur Verfügung.

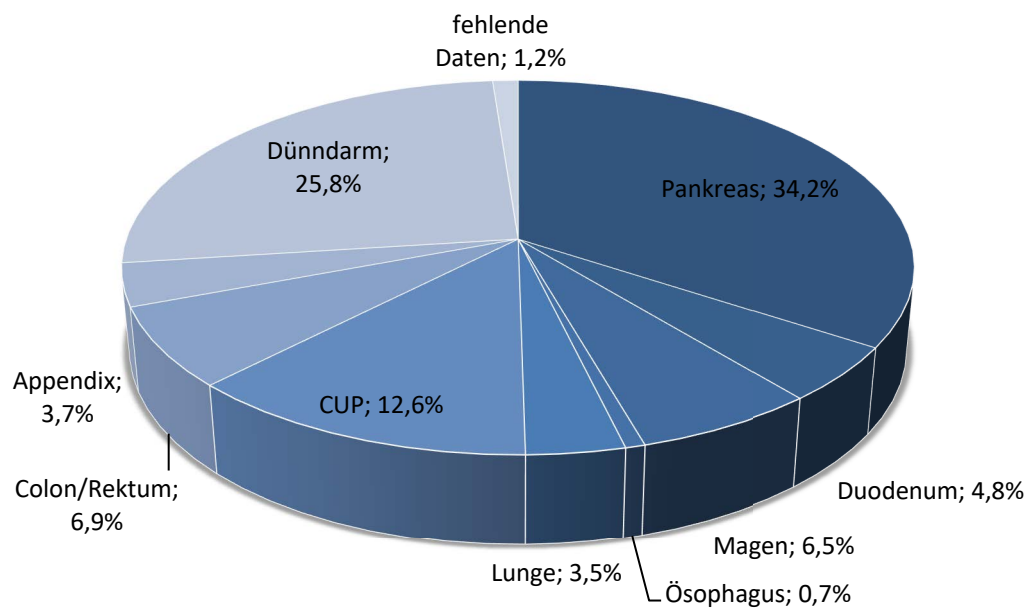


Abbildung 1: Primärtumorlokalisation der im deutschen NET-Register registrierten Fälle (Begum et al. 2014)

Bei 58% der 2009 Patienten lagen Angaben zur Einteilung entsprechend der WHO-Klassifikation von 2000 vor. Hiernach wiesen 28,6% der Patienten einen hochdifferenzierten neuroendokrinen Tumor, 55% ein hoch differenziertes neuroendokrines Karzinom und 16,5% der Patienten ein gering differenziertes neuroendokrines Karzinom auf. Der Ki-67-Index lag bei 49% der Patienten vor und zeigte folgende Verteilung: 17,4% der Fälle hatten einen G1-, 23,6% der Patienten einen G2- und 7,9% der Fälle einen G3-Tumor. Zu den verbleibenden Fällen wurden keine Angaben gemacht.

Die 5-Jahres-Überlebensrate (5-JÜLR) der Patienten für das Gesamtüberleben betrug 82% und für das tumorspezifische Überleben 85%. In dem genannten Zeitraum von ca. 11 Jahren verstarben 12,7% der Patienten, die eine operative Therapie erhalten hatten, und 22,4% der

nicht operierten Patienten. Die 5-JÜLR war somit für die operierten Patienten höher. Zusätzlich korrelierte die 5-JÜLR mit dem Ki-67-basierten Grading. Sie betrug bei G1-Tumoren 88%, bei G2-Tumoren 82% und bei G3-Tumoren nur 33% (Begum et al. 2014).

2.1.3 Klinik

Die Klinik der NEN ist sehr variabel und weist eine Reihe von unspezifischen Symptomen auf. Ein typisches Phänomen von NEN ist das Auftreten von charakteristischen Leitsymptomen, die auf einen funktionell aktiven Tumor schließen lassen. Durch die Freisetzung von Peptidhormonen und biogenen Aminen (z.B. Insulin, Gastrin, Serotonin, Glukagon, Somatostatin, Vasoaktivem Intestinalen Polypeptid (VIP)) zeigt sich ein typisches klinisches Bild (Noe et al. 2011). Jedoch besitzen nur ca. 10% der GEP-NEN eine funktionelle Aktivität, davon sind 90% Insulinome oder Gastrinome. Andere hormonell aktive Tumore wie VIPome, Glukagonome, Karzinoide und Somatostatinome sind relativ selten (Bausch und Keck 2013). Eine Übersicht über die verschiedenen funktionell aktiven neuroendokrinen Neoplasien mit ihren jeweiligen Symptomen ist in der Tabelle 5 dargestellt.

Funktionell inaktive neuroendokrine Tumore zeigen ein unspezifisches Beschwerdebild und werden meist erst im Spätstadium diagnostiziert. Zu diesem Zeitpunkt liegt bei 32-73% der Patienten bereits eine hepatische Metastasierung vor. Zu den unspezifischen Symptomen gehören abdominelle Schmerzen, Übelkeit und Gewichtsverlust als Zeichen einer bereits fortgeschrittenen Tumorerkrankung (Bausch und Keck 2013). Häufig werden neuroendokrine Tumore auch erst im Rahmen einer Notfalllaparotomie aufgrund eines Ileus oder bei bestehenden Lebermetastasen mit unklarem Primarius diagnostiziert. Deshalb sollte bei anhaltenden unspezifischen abdominellen Beschwerden differentialdiagnostisch an neuroendokrine Tumore gedacht werden (Musholt 2011).

Tabelle 5: Übersicht über die funktionell aktiven neuroendokrinen Neoplasien (Arnold 2008)

Tumortyp/Syndrom	Klinische Symptome	Peptidhormon
Insulinom	Hypoglykämien, neuroglukopene Symptome (Sehstörungen, Verwirrtheit, Aggressivität, Krämpfe, Bewusstseinsstörungen)	Insulin
Gastrinom, Zollinger-Ellison-Syndrom	Rezidivierende Magen- und Duodenalulzera, wässrige Diarrhöen, Oberbauchschmerzen	Gastrin
Glukagonom	Gewichtsverlust, Anämie, Diabetes mellitus, Dermatitis (nekrolytisches migratorisches Erythem mit sekundärer Blasenbildung)	Glukagon
Vipom, Verner-Morrison-Syndrom	Massive wässrige Diarrhöen, Exsikkose	VIP
Karzinoidsyndrom	Flush, Endokardfibrose, die zu einer Rechtsherzinsuffizienz führen kann	Serotonin
Somatostatinom	Diabetes mellitus, Steatorrhö, Diarrhöen, Cholezystolithiasis	Somatostatin

2.1.4 Diagnostik

Gastroenteropankreatische neuroendokrine Neoplasien weisen eine große Heterogenität hinsichtlich ihres proliferativen und endokrinen Verhaltens auf. Gleichermaßen vielfältig äußern sich die klinischen Verläufe. Einerseits offenbaren sich gastroenteropankreatische neuroendokrine Neoplasien als Zufallsbefunde; sie treten als indolente Neoplasien auf, die zufällig in der radiologischen Diagnostik oder in der histopathologischen Untersuchung von Operationspräparaten gefunden werden. Zum anderen werden progrediente Verläufe mit hoher proliferativer Aktivität der Tumore und metastasierendem Charakter beschrieben. Diese neuroendokrinen Neoplasien fallen klinisch durch infiltrierendes oder obstruierendes Wachstum bzw. durch das Vorhandensein von Metastasen auf und werden im fortgeschrittenen Stadium aufgrund abdomineller Beschwerden, z.T. in Form eines akuten Abdomens, diagnostiziert. Funktionell aktive neuroendokrine Neoplasien sezernieren Hormone, Neuropeptide und/oder Neurotransmitter, die charakteristische klinische Symptome verursachen (z.B. Zollinger-Ellison-Syndrom beim Gastrinom, das rezidivierende Hypoglykämiesyndrom beim Insulinom). Die Diagnostik von GEP-NEN erfordert einen interdisziplinären Einsatz von endoskopischen, radiologischen, laborchemischen und histopathologischen Verfahrensweisen für ein zuverlässiges Staging und Grading als

Voraussetzung für optimale Therapiemaßnahmen (Scherübl et al. 2003, Beuschlein und Reincke 2012).

2.1.4.1 Laborchemische Diagnostik

Einige GEP-NEN sind funktionell aktiv, sie produzieren Peptidhormone und biogene Amine und setzen diese ins Blut frei. Durch deren Freisetzung kommt es zum Auftreten der typischen neuroendokrinen Hypersekretionssyndrome (Tiling et al. 2002). Im Duodenum finden sich typischerweise gastrin- und somatostatinproduzierende neuroendokrine Neoplasien. Im Bereich des Jejunums und Ileums treten serotoninbildende Tumore auf und im Pankreas kommen Insulin-, Glukagon- und VIP-bildende NEN vor. Die Bestimmung von Insulin (Insulinom), Glukagon (Glukagonom), Gastrin (Gastrinom), VIP (VIPom) und Somatostatin (Somatostatinom) im Serum sowie der Nachweis von 5-Hydroxyindolessigsäure im 24h-Sammelurin (Karzinoidsyndrom) kann hinweisend auf funktionell aktive neuroendokrine Neoplasien sein (Fottner und Weber 2012b).

Das Chromogranin A (CgA) ist neben der spezifischen Bestimmung der Hormone im Blut ein weiterer etablierter Tumormarker bei der Diagnostik von neuroendokrinen Tumoren, der sich bei den meisten Patienten mit GEP-NEN im Serum nachweisen lässt. CgA befindet sich in den sekretorischen Vesikeln von neuroendokrinen Zellen und ist ein saures Glykoprotein. Der CgA-Nachweis besitzt eine Sensitivität von 50-90% und eine Spezifität von 83-99%. Die Höhe des CgA-Spiegels korreliert hierbei mit der Größe des Tumors und ist weiterhin abhängig vom Differenzierungsgrad und der Lokalisation des Primärtumors. Auch als Verlaufsparemeter eignet sich das CgA, da es mit dem klinischen Verlauf und der Tumorprogression korreliert. Jedoch eignet es sich bei Verdacht auf ein GEP-NEN nicht als Screeningparemeter, da eine Vielzahl von Faktoren (z.B. die Einnahme von Protonenpumpeninhibitoren, eine chronisch-atrophische Gastritis, eine chronische Diarrhö, eine Schwangerschaft oder eine eingeschränkte Nierenfunktion) zu falsch hohen CgA-Werten führen kann (Fottner und Weber 2012b).

2.1.4.2 Pathologische Diagnostik

Pathomorphologisch ist der Großteil der Neoplasien des diffusen neuroendokrinen Systems in der Submukosa des Magen-Darms-Trakts lokalisiert, wobei die deckende Schleimhautschicht lange unversehrt bleibt. Erst im späteren Verlauf kommt es zur Infiltration in die Muscularis propria und dadurch zur lymphogenen und später zur

hämatogenen Metastasierung. Die entstandenen Metastasen können größer als der Primärtumor sein (Böcker et al. 2012).

Eine histologische Einteilung in die 5 verschiedenen Wachstumsformen, insulär-solid, trabekulär, glandulär, gemischt oder undifferenziert, erfolgte bereits im Jahre 1971 von J. Soga (Soga und Tazawa 1971).

Hoch differenzierte neuroendokrine Neoplasien imponieren als scharf begrenzte weißlich-gelbliche Tumore von relativ weicher Konsistenz. Das typische histologische Muster dieser NEN sind trabekuläre, azinäre bzw. glanduläre, solid-nestförmige oder ballenartige Wachstumsformen. Die Zellen von NEN weisen ein eosinophiles Zytoplasma auf, die Zellkerne erscheinen rund und polymorph, und weisen ein sogenanntes Salz- und Pfeffer-Chromatinmuster auf. Da es sich um hochdifferenzierte NEN handelt, sind Mitosen selten und der Proliferationsindex liegt unter 20%.

NEC sind schlecht differenzierte NEN und zeigen ein solides und diffuses Wachstumsverhalten. Histologisch weisen NEC ein Bild von undifferenzierten kleinzelligen oder großzelligen Karzinomen auf. Eine Differenzierung zwischen klein- oder großzelligen NEC gelingt nicht an Hand der Zellgröße, sondern durch das Wachstumsmuster und die Gestalt der Zellkerne. Kleinzellige NEC werden durch großflächige, diffuse, fokal nekrotische Formationen, deren Zellen chromatindichte Kerne ohne deutlichen Nukleolus besitzen, charakterisiert. Großzellige NEC zeigen eine organoide Struktur mit Ausbildung bandförmiger Formationen und zentralen Nekrosen. Die runden Zellkerne, welche chromatinarm sind, weisen eine Kernmembran und gut sichtbare Nukleoli auf. Trotz der aufgeführten Kriterien ist eine Unterscheidung zwischen klein- und großzelligen NEC kaum möglich. Aufgrund der hohen Proliferationsrate von meist über 50% weisen sie zahlreiche Mitosen auf (Esposito und Schlitter 2015, Klöppel 2015).

2.1.4.3 Immunhistochemische Diagnostik

Zur immunhistochemischen Diagnostik von neuroendokrinen Neoplasien wird als Gewebemarker neben dem vorn genannten CgA auch das Synaptophysin empfohlen.

Synaptophysin ist ein integrales Membranprotein von kleinen synaptischen Vesikeln, welches im Zytoplasma bei allen normalen und neoplastischen neuroendokrinen Zellen vorkommt (Klöppel et al. 2009).

Weitere Marker wie das CD56-Antigen und die neuronenspezifische Enolase (NSE) werden aufgrund ihrer geringen Spezifität nicht mehr empfohlen (Bergmann 2013).

Der Antikörper Ki-67 demaskiert ein nukleäres Antigen, welches im Zellzyklus in der G1-, S-, G2- und M-Phase in normalen und neoplastischen Zellen exprimiert wird, jedoch nicht in ruhenden Zellen (G0-Phase). Da das Ki-67-Antigen in allen Phasen der Zellteilung nachgewiesen werden kann, erweist es sich als guter Marker für die Wachstumsfraktion einer Zellpopulation und dient als prognostischer Wert in der Tumordiagnostik. Der Name des Antikörpers Ki-67 richtet sich nach der Stadt Kiel, in der der Antikörper erstmals untersucht wurde, und die Ziffer 67 nach der Nummer des Originalklons in der 96-well-Platte (Gerdes et al. 1984, Scholzen und Gerdes 2000). Mithilfe dieses Antikörpers ist eine Charakterisierung von Tumoren bezüglich Prognose und therapeutischem Vorgehen möglich (Kaudel et al. 2011). Das proliferationsbasierte Grading von GEP-NEN ist in der Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 6: Proliferationsbasiertes Grading von gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Neoplasien (Esposito und Schlitter 2015)

Nomenklatur	Grading/ Proliferationsaktivität ^a	Mitoserate ^b
Neuroendokriner Tumor	G1 ($\leq 2\%$)	≤ 2 Mitosen/10 HPF
Neuroendokriner Tumor	G2 (3–20%)	3–20 Mitosen/10 HPF
Neuroendokrines Karzinom	G3 ($> 20\%$)	> 20 Mitosen/10 HPF

^a Proliferationsaktivität: % von 500–1000 Tumorzellen in den Hotspots

^b Mitoserate: 1 „high-power field“ (HPF) = 2mm

2.1.4.4 Bildgebende Diagnostik

Transabdomineller Ultraschall

Laut Amthauer et al. (2004) ist der transkutane Ultraschall bei der bildgebenden Diagnostik von neuroendokrinen Tumoren allgemein anerkannt und wird früh in der Diagnostik angewendet. Die Vorteile der Ultraschalldiagnostik sind eine breite Verfügbarkeit, eine einfache Durchführbarkeit, die hohe Aussagekraft bei der Beurteilung von Leberherden mit intravenöser Kontrastmittelgabe und die Möglichkeit einer ultraschallgestützten Punktion von Lebermetastasen. Nachteile zeigen sich in der Untersucherabhängigkeit, der limitierten Sensitivität und der Kontrastmittelkosten (Maasberg et al. 2012). Die Sonographie ist oft wegen der geringen Tumorgöße des Primärtumors und der Überlagerung der zu untersuchenden Organe durch gasgefüllte Darmschlingen beschränkt (Amthauer et al. 2004).

Endosonographie

Die Endosonographie hat eine hohe Sensitivität beim Staging von Ösophagus-, Magen-, Duodenum-, Pankreas- und Rektum-NEN. Sie eignet sich für die Beurteilung der regionalen Lymphknoteninfiltration und der Beziehung des Tumors zum angrenzenden Gewebe, was für das Staging und die Beurteilung der operativen Resezierbarkeit von Bedeutung ist. Des Weiteren ist bei der Endosonographie eine zytologische Untersuchung mittels Feinnadelpunktion möglich (Vick et al. 2003, Maasberg et al. 2012).

Intraoperativer Ultraschall

Mit Hilfe des Ultraschalls kann intraoperativ die Leber und das Pankreas untersucht werden. Durch die Kombination des intraoperativen Ultraschalls mit der Palpation des Chirurgen wird eine Sensitivität von über 97% für die exakte Lokalisation der Pankreasläsionen erreicht. Auch die Präsenz von Lebermetastasen und die Beziehung des Tumors zu angrenzenden Gefäßen kann mit Hilfe des intraoperativen Ultraschalls beurteilt werden (Vick et al. 2003).

Endoskopie

Mit der Endoskopie stehen unmittelbar bildgebende Verfahren für gastrointestinale Neoplasien zur Verfügung. Außer bei Videokapselendoskopien können Proben zur histopathologischen Beurteilung direkt gewonnen werden (Noe et al. 2011).

Echokardiographie

Die Echokardiographie findet vor allem bei NEN mit Karzinoid-Syndrom Anwendung. Sie besitzt eine hohe Sensitivität und Spezifität für die Diagnostik eines Hedinger-Syndroms (Maasberg et al. 2012). Fast 40% der Patienten mit einem Karzinoid-Syndrom entwickeln eine Karzinoid-Herzerkrankung (carcinoid heart disease (CHD)) mit fibrotischen endokardialen Plaques und damit einhergehenden Herzklappenvitien. Die häufig vorkommenden rechtsseitigen Herzerkrankungen sind assoziiert mit einer Trikuspidalinsuffizienz und einer Pulmonalstenose, mit der Folge einer Entwicklung einer pulmonalen Hypertonie. Linksseitige Herzerkrankungen kommen seltener vor und sind gekennzeichnet durch das Auftreten von koronaren Vasospasmen und Angina-pectoris-Anfällen (Pinchot et al. 2008).

Computertomographie/Magnetresonanztomographie

Die Computertomographie (CT) und die Magnetresonanztomographie (MRT) stellen in der präoperativen Diagnostik, der Therapieoptimierung und in der Verlaufskontrolle von GEP-NEN gesicherte Standardverfahren dar (Amthauer et al. 2004). Bei der CT sollte die Schichtdicke der axial rekonstruierten Bilder 3-5 mm betragen und, da sowohl GEP-NEN als auch deren Metastasen stark vaskularisiert sind, eine biphasische Untersuchung in einer arteriellen und portalvenösen Kontrastmittelphase erfolgen. Um Neoplasien im Magen oder Duodenum besser abgrenzen zu können, hat sich eine i.v.-Gabe von 40 mg Butylscopolamin und das Trinken von 1 Glas Wasser vor der Untersuchung etabliert. Zur Beurteilung des Dünndarms kann ein CT-Enteroklysma angewendet werden. Die MRT wird v.a. in der Diagnostik von Lebermetastasen und bei NEN des Pankreas eingesetzt. Das MR-Enteroklysma stellt ein geeignetes Verfahren zur Beurteilung des Dünndarms dar (Holzapfel et al. 2015).

Somatostatinrezeptorszintigraphie

Die Somatostatinrezeptorszintigraphie (SRS) hat in der Diagnostik von neuroendokrinen Neoplasien einen hohen diagnostischen Stellenwert, da die überwiegende Anzahl der Tumore Somatostatinrezeptoren exprimiert (Noe et al. 2011). Der Vorteil dieses bildgebenden Verfahrens ist, dass ein Ganzkörperscreening durchgeführt werden kann und Primärtumore und Metastasen ab einer Größe von etwa 1 cm dargestellt werden können. Dabei hängt die Sensitivität der SRS von der Dichte der Somatostatinrezeptor-Expression ab,

die wiederum vom Differenzierungsgrad der Neoplasien determiniert wird (hoch differenzierte NET 73-97%, mäßig differenzierte NET 85%, schlecht differenzierte NET <60%) (Goetz et al. 2010). Zusätzlich erhält man Informationen über den Somatostatinrezeptor-Status der Tumore, was von großer Bedeutung für eine Behandlung mit Somatostatin-Analoga ist. Als Standardmethode für die SRS gilt heute die ^{111}In -DTPA-Octreotid-Szintigraphie (OctreoScan) (Sundin 2012).

Somatostatinrezeptor-PET/CT

Durch die stetig zunehmende Verfügbarkeit von SSTR-spezifischen Radiopharmaka für die Positronenemissionstomographie (PET) konnte ein Fortschritt in der Diagnostik von NEN erreicht werden. Überwiegend kommen dabei ^{68}Ga -DOTA-TATE und ^{68}Ga -DOTA-TOC, die eine hohe Affinität zum SSTR-Typ 2 aufweisen, zur Anwendung (Haug und Bartenstein 2012). Aufgrund der hohen Auflösung des PET können auch kleinere Läsionen ab 0,5 cm Durchmesser nachgewiesen werden und mit der Kombination mit schnittbildgebenden Verfahren als PET/CT gut lokalisiert werden. Infolgedessen besitzt dieses Verfahren die höchste Sensitivität zum Nachweis von SSTR-positiven Tumoren (Goetz et al. 2010).

^{18}F -Desoxyglukose-PET/CT

Der Nachweis von Tumoren mit dem ^{18}F -Desoxyglukose-PET (FDG-PET) beruht auf einer erhöhten Fluordesoxyglukose (FDG)-Aufnahme durch Glukosetransporter und FDG-Speicherung in malignen Tumorzellen. Aufgrund dessen ist der Nachweis von neuroendokrinen Tumoren mittels FDG-PET nur möglich, wenn diese einen erhöhten Glukosemetabolismus aufweisen. Da gut differenzierte neuroendokrine Tumore mit niedrigem Proliferationsindex über keinen erhöhten Glukoseumsatz verfügen, eignet sich diese Methode nicht zur Diagnostik dieser Neoplasien. Im Gegensatz dazu haben gering- bis entdifferenzierte neuroendokrine Tumore einen erhöhten Proliferationsindex und demzufolge einen gesteigerten Glukoseumsatz und eine erhöhte FDG-Speicherung. Daher kann diese Methode bei der molekularen Bildgebung von NEC eingesetzt werden. Die FDG-Avidität hat sich außerdem als ein ungünstiger prognostischer Marker bei neuroendokrinen Karzinomen erwiesen (Baum und Hofmann 2004, Haug und Bartenstein 2012).

2.1.5 Therapie

Zur Therapie von GEP-NEN steht eine Vielzahl von verschiedenen Verfahren zur Verfügung, wie chirurgische Therapieoptionen, die Chemotherapie, die Strahlentherapie, die Peptidradiorrezeptorthherapie, die Biotherapie und lokal interventionelle Verfahren (Embolisationstherapie) (Musholt und Watzka 2015), welche nachfolgend im Überblick behandelt werden. Dabei orientieren sich die therapeutischen Maßnahmen individuell an der Symptomatik, der Wachstumsgeschwindigkeit des Tumors und dem Zustand des Patienten (Simon 2005). Aufgrund der Heterogenität der neuroendokrinen Tumoren, des interindividuell unterschiedlichen Wachstumsverhaltens und der vielfältigen Therapieoptionen sollte für jeden Patienten individuell und interdisziplinär eine optimale Therapiestrategie entworfen werden. Die drei Grundprinzipien der Therapie umfassen nach Spitzweg und Göke (2002):

- (1) die chirurgische Therapie solitärer Tumore als einzigem kurativem Ansatz bzw. das chirurgische Tumordebulking zur Kontrolle des Tumorwachstums,
- (2) die medikamentöse Therapie bei nicht resektablen Tumoren oder im Rahmen der präoperativen Vorbereitung zur Kontrolle der durch die unkontrollierte Hormonfreisetzung bedingten klinischen Symptome und damit der Erhalt der Lebensqualität,
- (3) die pharmakologische Therapie zur Beschränkung des Tumorwachstums oder die Chemoembolisation bei Lebermetastasen.

2.1.5.1 Chirurgische Therapie

Die chirurgische Resektion steht als einzigste Therapieoption mit kurativem Ansatz bei neuroendokrinen Tumoren zur Verfügung und stellt zumeist die erste Therapie dar (Modlin et al. 2008). Da selbst beim Vorliegen von Metastasen die operative Therapie von Primärtumoren bzw. der Metastasen das Überleben von einigen Patienten verlängern, die Symptome vermindern und dadurch die Lebensqualität steigern kann, kann die chirurgische Resektion zu jedem Zeitpunkt der Tumorerkrankung auch als palliatives Verfahren indiziert sein (Modlin et al. 2005, Maroun et al. 2006). Die Vielfalt der operativen Therapiemöglichkeiten erstreckt sich von organerhaltenen minimal-invasiven Eingriffen bis hin zu ausgedehnten multiviszeralen Resektionen. Diese Behandlungsverfahren sind vor allem abhängig von der Art und Lokalisation des Primärtumors, der Tumordignität sowie der

Infiltration in das umliegende Gewebe (Kaudel et al. 2011). Die Tabelle 7 liefert eine Übersicht über die entsprechenden Therapieempfehlungen bei GEP-NEN.

Tabelle 7: Chirurgische Therapieempfehlungen bei gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Neoplasien (Arnold et al. 2013, Musholt und Watzka 2015)

Lokalisation	Durchmesser (cm) / Faktoren	Chirurgische Therapieempfehlung
Magen		
Typ I	<1cm	Endoskopische Mukosaresektion
	1-2 cm	Bei Ausschluss einer Metastasierung: lokale chirurgische Resektion
	>2cm bzw. Infiltration Muscularis propria oder Angioinvasion	Chirurgische Resektion bis zur Gastrektomie mit D2-Lymphadenektomie
Typ II	<1cm und niedriger Ki-67-Index (1-2%)	Endoskopische Resektion
	>1 cm	Gastrektomie mit Lymphadenektomie und Exploration des Pankreas und des Duodenums
Typ III + IV		Partielle oder komplette Magenresektion und Lymphadenektomie
Pankreas		
Insulinom		Parenchym sparende Enukleation bzw. Pankreasresektion
Gastrinom		Radikale Resektion mit Lymphadenektomie
Hormoninaktive NEN des Pankreas		Radikale Resektion mit Lymphadenektomie und Therapie der Lebermetastasen
Duodenum, Ampulle, prox. Jejunum		Resektion von Primärtumor und Lymphadenektomie
Jejunum/Ileum		Bei kurativer und palliativer Situation: Resektion von Primärtumor und Lymphadenektomie
Appendix		
	<1 cm	Appendektomie
	>2cm	Hemikolektomie
	1-2 cm	Bei Tumoren mit einem Durchmesser zwischen 1 und 2 cm sollten weitere Kriterien herangezogen werden. Eine Hemikolektomie sollte durchgeführt werden, wenn die Resektionsgrenze nicht oder fraglich tumorfrei ist, eine Gefäßinvasion oder eine tiefe Infiltration (>3 mm) der Mesoappendix und/oder eine hohe Proliferationsrate (G2-Tumor) vorliegt.

Kolon	kurativ	Resektion des Tumors (Hemikolektomie oder subtotale Kolektomie) mit Lymphadenektomie.
	palliativ	Tumormassenresektion zur Vermeidung von Lokalkomplikationen (z.B. Darmobstruktion)
Rektum		
	<1cm	Endoskopische Resektion
	>2cm	Rektumresektion und totale mesorektale Exzision
	1-2cm	Zur Beurteilung einer Invasion der Muscularis propria sollte eine Endosonographie und funktionelle Bildgebung präoperativ durchgeführt werden. Wenn keine Invasion vorliegt, kann eine lokale Exzision durchgeführt werden. Im Zweifel sollte die Rektumresektion mit totaler mesorektaler Exzision und Lymphadenektomie erfolgen.

2.1.5.2 Chemotherapie

Die Entscheidung für den Einsatz von Chemotherapeutika ist abhängig vom Primärtumor, der Lokalisation sowie vom Staging und dem Proliferationsindex. Die Behandlung von neuroendokrinen Tumoren mit einer Chemotherapie umfasst den Einsatz einer Kombination von Streptozotocin (STZ) plus Doxorubicin und/oder 5-Fluorouracil (5-FU), Cisplatin plus Etoposid und Dacarbazin (Eriksson et al. 2009) sowie eine Kombination von Capecitabin (5-FU) und Temozolomid (Strosberg et al. 2011).

Eine Chemotherapie wird bei pankreatischen neuroendokrinen Neoplasien (P-NEN) erst empfohlen, wenn unter Biotherapie eine Progression aufgetreten ist. Hier zeigen Kombinationen mit Streptozotocin und 5-Fluorouracil bzw. Doxorubicin Tumoransprechraten von 35-40%. Bei bereits metastasierten P-NEN konnte in einer Studie von Strosberg et al. (2011) durch die Kombination von Capecitabin und Temozolomid eine Gesamtansprechraten von 70%, ein progressionsfreies Überleben von 18 Monaten und ein 2-Jahres-Überleben von 92% erreicht werden. Aufgrund des unzureichenden Ansprechens bei ilealen NEN wird hier eine systemische Chemotherapie nicht empfohlen. Eventuell kann eine Chemotherapie im fortgeschrittenen Stadium nach Versagen anderer Therapien oder bei fehlenden anderweitigen Therapieoptionen erwogen werden (Strosberg et al. 2011, Noe und Neu 2015).

2.1.5.3 Strahlentherapie

Die perkutane Strahlentherapie gehört zu den älteren Therapieprinzipien bei der Behandlung von neuroendokrinen Tumoren. Sie findet heute v.a. ihren Platz in der lokalen Therapie von Gehirn- und Knochenmetastasen. Mit der perkutanen Strahlentherapie kann in hohem Maße ein palliativer, vereinzelt sogar ein lokal kurativer Effekt erzielt werden. Die Ziele der primären Strahlentherapie sind eine Reduktion der Schmerzen, eine Obstruktionsverhinderung mit Ileusprophylaxe und eine Verhinderung der Hormonausschüttung bei funktionell aktiven NET. So stellen Knochenschmerzen als Folge einer ossären Metastasierung eine Indikation zur Radiotherapie dar. Dadurch kommt es zur Destruktion von Tumorzellen, wodurch eine Schmerzreduktion und Rekalzifizierung der Knochenstrukturen erreicht werden kann. Als Folge dessen können Komplikationen mit einer erhöhten Morbidität wie Frakturen und eine damit verbundene Pflegebedürftigkeit verhindert werden. Beim Vorliegen von multiplen Hirnmetastasen stellt die Ganzhirnbestrahlung die Therapie der Wahl dar, wobei bei einzelnen Metastasen die stereotaktische Bestrahlungstechnik mit einer hohen geometrischen Präzision unter Schonung des gesunden Gewebes angewendet wird. Typische Nebenwirkungen der Radiotherapie sind Blutbildveränderungen. Bei der Bestrahlung von Knochenmetastasen kann es zu einer passageren Schmerzverstärkung kommen und nach der Bestrahlung von Hirnmetastasen werden eine Alopezie, Radionekrosen und Umgebungsödeme beschrieben (Pigorsch et al. 2004, Adamietz und Zeller 2011).

2.1.5.4 Embolisationstherapie

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung liegt bei den meisten Patienten eine hepatische Metastasierung vor (Pavel et al. 2012). Eine kurative Resektion ist in diesem Stadium der Erkrankung nur in 10-20% der Fälle möglich. Eine Alternative stellt die Embolisationstherapie dar. Die physiologische Perfusion des Lebergewebes erfolgt überwiegend über die Pfortader (75%) und aus der Leberarterie (25%). Da Lebermetastasen von GEP-NEN überwiegend arteriell vaskularisiert sind, stellt die Embolisationstherapie ein anerkanntes therapeutisches Verfahren dar. Die transarterielle Embolisation (TAE) beruht auf einer selektiven Applikation eines Embolisats in die tumorversorgenden Gefäße. Die Embolisation induziert eine Tumorschämie und es kommt zur Ausbildung von Nekrosen, wodurch es zu einer Reduktion des Tumorumfanges, zu einer Minderung der Hormonsekretion und zu einer Abnahme der Symptome kommt. Bei einer transarteriellen Chemoembolisation (TACE) kann gleichzeitig

ein Zytostatikum appliziert werden (Libicher und Bovenschulte 2009). Im Vergleich zur systemischen Applikation von Chemotherapeutika kann bei der TACE lokal eine 20-fach höhere Konzentration bei deutlich geringeren systemischen Nebenwirkungen erreicht werden (Kress et al. 2004, Kennedy et al. 2015). Eine partielle Remission wird mit einem 5-Jahres-Überleben von 50-60% in ca. 50% der Fälle erreicht (Libicher und Bovenschulte 2009). Eine Alternative zur Therapie von Lebermetastasen stellt die selektive interne Radiotherapie (SIRT) dar. Diese innovative Therapieform findet Anwendung, wenn eine Resektion oder lokal ablativ Verfahren nicht anwendbar sind und eine Progression der Lebererkrankung zu verzeichnen ist. Bei der SIRT werden mit dem Betastrahler $^{90}\text{Yttrium}$ beladene Mikrosphären in die tumorversorgenden Leberarterien injiziert. Daraufhin sammeln sich die Mikrosphären in den präkapillären Gefäßen und um das Tumorgewebe an. Dort entfalten die Betastrahlen aufgrund ihrer geringen Penetrationstiefe von ca. 2,5 mm ihre lokale strahlentherapeutische Wirkung unter Schonung des umgebenden gesunden Leberparenchyms. Coldwell et al. präsentierten Ergebnisse von Patienten mit nichtresektablen Lebermetastasen neuroendokriner Tumore. Hier zeigte sich im PET in 67% der Fälle ein Ansprechen auf die SIRT, bei den verbleibenden Patienten konnte eine Stabilisierung der Erkrankung erreicht werden. In 80% der Fälle zeigte sich bei den vorher symptomatischen Patienten eine deutliche Verbesserung des Beschwerdebildes (Jakobs et al. 2008, Duan und Hoffmann 2015).

2.1.5.5 Peptidradiorezeptorthherapie

Die Behandlung mit radioaktiv markierten Somatostatin-Analoga (SSA) ist eine relativ neue Therapiemöglichkeit für inoperable und metastasierte neuroendokrine Neoplasien (Kwekkeboom et al. 2009). Bei der Peptidradiorezeptorthherapie (PRRT) wird über einen Chelator (= DOTA) ein Betastrahlen emittierendes Therapienuklid an ein Somatostatinanalogon gebunden (Octreotate = DOTA-TATE oder Tyrosin-Octreotid = DOTA-TOC). Je nach Größe des Tumors oder der Metastasen werden verschiedene Betastrahler mit unterschiedlichen Reichweiten als Therapienuklid eingesetzt. Zum Einsatz kommen beispielsweise $^{90}\text{Yttrium}$ mit einer Reichweite von ca. 12 mm im Gewebe oder $^{177}\text{Lutetium}$ mit einer geringeren Reichweite von ca. 2 mm (Sayeg et al. 2014). Durch die höhere Reichweite im Gewebe ist $^{90}\text{Yttrium}$ eher für größere Tumoren/Metastasen und $^{177}\text{Lutetium}$ besonders für kleinere Tumorherde geeignet (Grabowski und Horsch 2015). $^{177}\text{Lutetium}$ besitzt im Vergleich nicht nur eine geringere Reichweite als $^{90}\text{Yttrium}$, sondern hat eine

annähernd doppelt so lange Halbwertszeit (HWZ) und weist eine höhere Affinität zum SSTR2 auf. In Studien konnte belegt werden, dass durch die PRRT ein Therapieansprechen im Sinne einer Reduktion der Tumorgroße erreicht werden konnte, dass sich die Lebensqualität der Patienten signifikant verbesserte und dass sich die Therapie zur Symptomkontrolle bei funktionell aktiven NET eignet. Zu den Nebenwirkungen der PRRT gehören vor allem Übelkeit, Erbrechen, abdominelle Schmerzen, eine transiente Hämatotoxizität sowie eine Nephrotoxizität. Letztere kann durch den Einsatz einer Aminosäurelösung mit Lysin und Arginin gesenkt werden (Rolleman et al. 2003, Haug und Bartenstein 2011). Voraussetzung für die PRRT ist eine ausreichende Speicherung in der Somatostatinrezeptorszintigraphie bzw. im ^{68}Ga -DOTA-TATE- oder ^{68}Ga -DOTA-TOC-PET/CT (Haug und Bartenstein 2011). In der NETTER-1-Studie, einer prospektiven randomisierten Studie über 5 Jahre, wurde die Wirksamkeit der Peptidradiorezeptorthherapie bei 229 Patienten mit progredienten NET des Mitteldarms hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens, des Gesamtüberlebens und der Ansprechrates untersucht. Die Patienten wurden in zwei Gruppen randomisiert. Die eine Hälfte der Patienten erhielt eine PRRT mit ^{177}Lu -DOTA-TATE (7,4 GBq in 8 Wochen) für 4 Zyklen sowie zusätzlich 30 mg Octreotid alle 4 Wochen zur Symptomkontrolle. Die andere Patientengruppe wurde für 4 Wochen mit 60 mg Octreotid therapiert. Die derzeitigen Ergebnisse demonstrieren deutliche Unterschiede hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens. Das progressionsfreie Überleben in der Kontrollgruppe (Hochdosis-Octreotid-Therapie) liegt bei etwa 8 Monaten und ist in der ^{177}Lu -DOTA-TATE-Gruppe noch nicht erreicht. Die Ansprechrates betrug 18%, mit einer kompletten Remission, in der PRRT-Gruppe und 3% in der Somatostatinanalogon-Gruppe. Hinsichtlich der Beurteilung des Gesamtüberlebens ist in beiden Gruppen der Median noch nicht erreicht, die endgültigen Ergebnisse werden im Jahr 2017 erwartet. Somit könnte die Therapie mit ^{177}Lu -DOTA-TATE in Kombination mit dem Somatostatin-Analogon zum Standard für Patienten mit NET des Mitteldarms werden (Strosberg et al. 2016).

2.1.5.6 Biotherapie

Somatostatinanaloga (SSA) und Interferon- α (IFN- α) kommen in der Therapie von gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Tumoren zur Anwendung. Aufgrund ihrer Ableitung von biologischen Substanzen werden sie unter dem Begriff Biotherapeutika zusammengefasst.

Somatostatin-Analoga

Die Expression von SSTR auf der Oberfläche von neuroendokrinen Tumorzellen ist in etwa 80 - 95 % der Fälle ein wesentliches Merkmal dieser Entität und somit ein entscheidender Angriffspunkt für die Diagnostik und die Therapie (Auernhammer et al. 2012).

Die beiden zugelassenen SSA Octreotid und Lanreotid besitzen eine hohe Affinität zu den SSTR-Subtypen 2 und 5 und gering auch zum SSTR3. Über diese Rezeptoren wird eine symptomatische, antisekretorische und antiproliferative Therapie erreicht. Die Substanzen hemmen die Hormonsekretion der neuroendokrinen Zellen und führen so zu einer Verbesserung der Symptomatik. Bei endokrin aktiven NET des Pankreas und beim Karzinoidsyndrom kann in 40 - 90 % der Fälle eine Symptomreduktion erreicht werden. Ein stabiler Tumorbefund zeigte sich bei etwa 50 - 60 % der mit SSA behandelten Patienten. Eine Tumorremission trat dagegen selten auf (Pavel 2011). Insgesamt weist die Therapie mit SSA geringe Nebenwirkungen auf und hat ein günstiges Nutzen-Risiko-Verhältnis. Zu den häufigsten Nebenwirkungen zählen Flatulenz, weicher Stuhl, Diarrhöen, Steatorrhöen und Fettmalabsorption, Gallenblasen-Sludge und Cholezystolithiasis sowie lokale Schmerzen und die Bildung von Knötchen an der Injektionsstelle (Auernhammer et al. 2012). Die Wirksamkeit der antiproliferativen Behandlung mit langwirksamen SSA wurde in zwei prospektiven, randomisierten Studien (PROMID, CLARINET) für GEP-NEN belegt. Caplin et al. (2014) konnten in der CLARINET-Studie eine signifikante Verlängerung des progressionsfreien Überlebens zeigen. In der PROMID-Studie wurde die Wirkung durch eine signifikante Verlängerung der TTP („time to tumor progression“) demonstriert (Rinke et al. 2009, Caplin et al. 2014, Schmitz 2014, Noe und Neu 2015).

Interferon- α

Interferon- α (INF- α) hat ebenfalls einen antisekretorischen und antiproliferativen Effekt bei GEP-NEN und wird häufig bei der Behandlung von Karzinoidsyndromen eingesetzt. IFN- α

reduziert über spezifische Rezeptoren an der Zelloberfläche die durch die Hypersekretion biogener Amine bedingte Symptomatik und besitzt eine wachstumshemmende Wirkung. Diese Wirkung beruht u.a. auf dem Eingriff in den Zellzyklus, einer vermehrten Induktion einer Apoptose der Tumorzellen sowie einer verstärkten Expression von Klasse-I-MHC-Antigenen auf der Tumorzelloberfläche für zytotoxische T-Lymphozyten (Plöckinger und Wiedenmann 2004, Pavel 2011). Häufige Nebenwirkungen der IFN- α -Therapie sind grippeähnliche Symptome, Autoimmunphänomene (Thyreoiditis, Myositis), eine Knochenmarksdepression sowie psychiatrische Störungen. Daher findet die IFN- α -Therapie nur noch selten und vor allem bei Versagen der SSA-Therapie zur Symptomkontrolle Anwendung (Maasberg et al. 2012).

2.2 Somatostatin

Somatostatin (SST) ist ein natürlich vorkommendes zyklisches Peptid, welches erstmals 1973 aus dem Hypothalamus isoliert wurde und vielfältige Funktionen aufweist. Somatostatin kommt in zwei verschiedenen Subformen vor: SST-14, bestehend aus 14 Aminosäuren, und SST-28, mit 28 Aminosäuren (Prasad et al. 2007).

SST-synthetisierende Zellen finden sich in hohen Konzentrationen besonders im zentralen und peripheren Nervensystem, im endokrinen Pankreas und im Darm. Kleinere Mengen sind in der Schilddrüse, den Nebennieren, den Glandulae submandibulares, den Nieren, der Prostata und der Plazenta nachweisbar. Außerdem exprimieren Tumorzellen, inflammatorische und Immunzellen (Lymphozyten, Makrophagen, Thymusepithelzellen) eine geringe Menge an Somatostatin (Patel 1999).

Als Neurotransmitter wirkt SST im Gehirn als Inhibitor des Wachstumshormons (Growth Hormone, GH), indem es dessen Sekretion hemmt. Weiterhin inhibiert SST die Sekretion von Dopamin, Thyreotropin-Releasing Hormon (TRH), Corticotropin-Releasing Hormon (CRH) und Thyreoidea-stimulierendem Hormon (TSH) und hat somit einen Einfluss auf die Schilddrüse und die Nebennieren. Im Gastrointestinaltrakt wirkt SST über seine endokrinen, parakrinen und autokrinen Funktionen, indem es die Sekretion von Magensäure, die Ausschüttung pankreatischer Hormone und die Bikarbonatsekretion inhibiert. Zusätzlich verhindert SST die Freisetzung zahlreicher pankreatischer und gastrointestinaler Hormone wie Insulin, Glukagon, Gastrin, Sekretin, Cholezystokinin, Pepsin und VIP. Weiterhin inhibiert Somatostatin die Sekretion von Wachstumshormonen wie dem Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1) und dem Epidermal Growth Factor (EGF) und wirkt negativ auf die Ausschüttung von

Zytokinen wie Interleukin 6 (IL-6) und Interferon- γ (IFN- γ). Des Weiteren wirkt SST auf die glatte Muskulatur und vermindert dadurch die motorische Aktivität von Magen, Gallenblase und Darm (Patel 1999, Prasad et al. 2007).

2.3 Somatostatinrezeptoren

2.3.1 Aufbau und Struktur von Somatostatinrezeptoren

Somatostatin vermittelt seine physiologischen Effekte über membrangebundene Rezeptoren, welche 1978 erstmals von Schonbrunn und Tashjian beschrieben wurden (Schonbrunn und Tashjian 1978). Bisher wurden sechs verschiedene Subtypen der Somatostatinrezeptoren identifiziert: SSTR1, SSTR2A, SSTR2B, SSTR3, SSTR4 und SSTR5 (Taniyama et al. 2005). Dabei stellen die Subtypen 2A und 2B unterschiedliche Spleißvarianten dar. Bisher wurde im humanen Gewebe ausschließlich die SSTR2A-Variante gefunden (Fischer et al. 2008). Alle Somatostatinrezeptoren weisen den typischen Aufbau von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren mit sieben Transmembrandomänen auf. Sie werden auf fünf verschiedenen Chromosomen kodiert. Das N-terminale Ende der SSTR ist verantwortlich für die Bindung des spezifischen Liganden und ist extrazellulär lokalisiert, während sich das C-terminale Ende intrazellulär befindet und die Signaltransduktion ins Zellinnere vermittelt. Die Größe der Somatostatinrezeptoren reicht von 356 bis zu 391 Aminosäuren und alle SSTR zeigen eine Sequenzidentität von 39-57% (Patel 1999). Das Molekulargewicht der SSTR liegt zwischen 45 und 95 kDa (Helboe et al. 1997).

2.3.2 Signaltransduktion der Somatostatinrezeptoren

Alle 5 Somatostatinrezeptoren wirken über G-Protein-gekoppelte Mechanismen. Als second messenger nutzen sie gemeinsame Signalkaskaden wie die Inhibition der Adenylatzyklase (AC), die Aktivierung der Phosphotyrosin-Phosphatase und die Modulation der Mitogen-aktivierten Protein-Kinase (MAPK).

Die Kopplung des Liganden an dem G-Protein-gekoppelten Rezeptor führt zur Aktivierung des heterotrimeren G-Proteins auf der intrazellulären Seite. Das heterotrimere G-Protein setzt sich aus den $G\alpha$ -, $G\beta$ - und $G\gamma$ -Untereinheiten zusammen. Im inaktiven Zustand bindet die $G\alpha$ -Untereinheit das Guanosindiphosphat (GDP), bei Aktivierung des Rezeptors kommt es zum Austausch von GDP in Guanosintriphosphat (GTP). Durch die Bindung des GTP an die $G\alpha$ -Untereinheit verliert das Heterotrimer seine Stabilität und es kommt zur Dissoziation des

$G\alpha$ -Monomers vom $G\beta\gamma$ -Dimer. Wird GTP zu GDP hydrolysiert, kann die α -Untereinheit des G-Proteins wieder mit der $\beta\gamma$ -Untereinheit reassoziieren, es bildet sich wieder ein Heterotrimer-Komplex, welcher an den membranständigen Rezeptor bindet (siehe Abbildung 2) (Teicher und Fricker 2010).

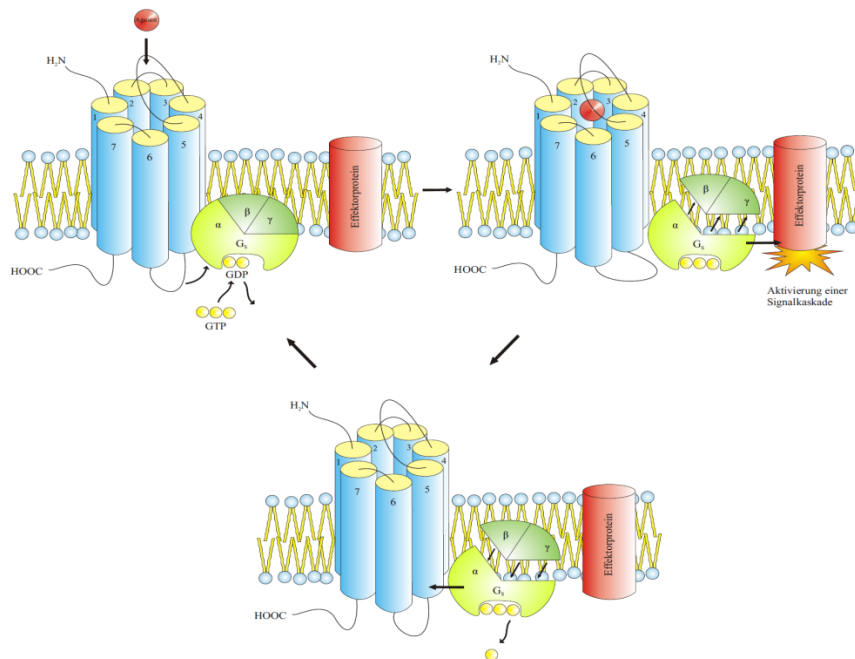


Abbildung 2: Aktivierungskaskade von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (Seibt 2012)

Die $G\alpha$ -Untereinheiten kann man in vier verschiedene Familien ($G\alpha_s$, $G\alpha_i$, $G\alpha_q$ und $G\alpha_{12}$) unterteilen, wobei jede dieser Isoformen verschiedene Proteine aktivieren und unterschiedliche Signalkaskaden auslösen kann. Während die $G\alpha_s$ -Untereinheit die Adenylatcyclase (AC) stimuliert, was zu einer erhöhten cAMP-Konzentration führt und die Aktivierung der Proteinkinase A (PKA) bedingt, inhibiert die $G\alpha_i$ -Untereinheit die Adenylatcyclase. Die $G\alpha_q$ -Untereinheit führt über die Aktivierung der Phospholipase C (PLC) zur Aktivierung von Phosphatidylinositol-spezifischen Phospholipasen, welche Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP_2) hydrolysieren und die Entstehung der beiden second-messenger Inositoltrisphosphat (IP_3) und Diacylglycerol (DAG) bewirken, wodurch es zu einem Anstieg des intrazellulären Ca^{2+} -Spiegels kommt und weitere Proteinkinasen aktiviert werden. Durch die $G\alpha_i$ -Untereinheit wird der Transkriptionsfaktor NF κ B über die Protein-Tyrosin-Kinase 2 (PYK2) aktiviert. Die $G\alpha_i$ - und $G\alpha_q$ -Untereinheit gekoppelten Rezeptoren stimulieren die Mitogen-aktivierte Protein Kinase (MAPK). Die G_{12} -Untereinheit ist mit kleinen G-Proteinen wie Rho und Ras assoziiert.

Bestimmte Subtypen sind auch an „inward rectifying“ K⁺-Kanäle (SSTR2, SSTR3, SSTR4 und SSTR5), an spannungsabhängige Ca²⁺-Kanäle (SSTR1 und SSTR2), an Na⁺/H⁺-Austauscher (SSTR1), an AMPA/Kainat-Glutamat-Kanäle (SSTR1, SSTR2), an die Phospholipase C (PLC) (SSTR2 und SSTR5) und an die Phospholipase A2 (SSTR4) gekoppelt (Patel 1999). Welcher Signaltransduktionsweg eingeschaltet wird, ist abhängig vom SSTR-exprimierenden Gewebe (Fehmann und Arnold 1996). Die Somatostatinrezeptoren 1, 4 und 5 bewirken über die Modulation der MAPK einen Zellzyklusarrest in der G1-Phase. Die Subtypen SSTR2 und SSTR3 können über p53 und über p53-unabhängige Mechanismen eine Apoptose induzieren (Ferjoux et al. 2000).

2.3.3 Vorkommen der Somatostatinrezeptoren

Die SSTR kommen in vielen Organen vor, größtenteils auch mehrere verschiedene Subtypen im gleichen Gewebe oder in der gleichen Zelle (Patel 1999). Die verschiedenen SSTR-Subtypen konnten im Gehirn, in der Hypophyse, im Gastrointestinaltrakt, im Pankreas, in den Nieren und Nebennieren, in der Schilddrüse, im Gefäßendothel und in den Immunzellen identifiziert werden (Reisine und Bell 1995, Lupp et al. 2011). Im gesunden Organismus zeigen die SSTR eine Organ- und gewebsspezifische Verteilung, demgegenüber findet sich im Tumorgewebe ein heterogenes Expressionsmuster (de Herder und Lamberts 2002).

Eine große Anzahl von Primärtumoren und deren Metastasen exprimieren SSTR in großer Dichte (de Herder und Lamberts 2002). Pathophysiologisch konnte die Expression von SSTR in verschiedenen Tumorentitäten nachgewiesen werden. Vor allem endokrine und neuroendokrine Tumore wie gastroenteropankreatische NET (GEP-NET), Hypophysenadenome, Schilddrüsenkarzinome, Insulinome, Glukagonome und Phäochromozytome zählen zu den bekannten SSTR-exprimierenden Tumoren. Aber auch in anderen Neoplasien konnten SSTR identifiziert werden, wie beispielsweise in malignen Lymphomen, ZNS-, Mamma-, Nieren-, Prostata- und kleinzelligen Lungenkarzinomen und in deren Metastasen (Reubi et al. 1992, Robbins 1996, Patel 1999, Mundschenk et al. 2003). Tabelle 8 gibt eine detaillierte Übersicht über die Verteilung der einzelnen SSTR-Subtypen in verschiedenen Tumoren. Dabei ist zu erkennen, dass die meisten SSTR-positiven Tumore gleichzeitig verschiedene SSTR-Subtypen exprimieren (Hofland und Lamberts 2003).

Tabelle 8: Expression der Somatostatinrezeptor (SSTR)-Subtypen in verschiedenen humanen Tumoren. Die Prozentangaben beziehen auf die untersuchten Tumore, die die mRNA der entsprechenden SSTR-Subtypen exprimieren. k.A.: keine Angaben (Hofland und Lamberts 2003)

Tumorentität	SSTR-Subtypen				
	SSTR1	SSTR2	SSTR3	SSTR4	SSTR5
Hypophysenadenome					
GH-produzierend	44%	96%	44%	5%	86%
hormonell inaktiv	38%	75%	43%	13%	48%
ACTH-produzierend	56%	67%	25%	0%	86%
GEP-NET					
Karzinoid	76%	80%	43%	68%	77%
Gastrinom	79%	93%	36%	61%	93%
Insulinom	76%	81%	38%	58%	57%
hormonell inaktive Inselzelladenome	58%	88%	42%	48%	50%
Nierenzellkarzinom	85%	100%	0%	50%	k.A.
Mammakarzinom	33%	99%	38%	23%	18%
Meningeom	46%	100%	33%	50%	71%
Gliom	100%	100%	67%	71%	57%
Neuroblastom	0%	100%	17%	k.A.	k.A.
Kolorektales Karzinom	27%	87%	22%	10%	46%
Medulläres Schilddrüsenkarzinom	29%	79%	36%	0%	64%
Phäochromozytom	100%	100%	73%	73%	73%

2.3.4 Somatostatinrezeptoren und gastroenteropankreatische neuroendokrine

Neoplasien

Somatostatinrezeptoren werden besonders in GEP-NEN und deren Metastasen exprimiert. Diese Überexpression von SSTR stellt eine entscheidende molekulare Basis für klinische Untersuchungen, symptomatische Therapien, die in-vivo-Diagnostik und die Radiotherapie dieser Tumore dar und leistet Hilfe bei der prognostischen Einschätzung (Reubi 2004). Die alleinige Feststellung, ob ein Tumor SSTR-positiv oder SSTR-negativ ist, ist nicht ausreichend, auch die Dichte, die Verteilung und das SSTR-Subtypprofil ist entscheidend (Reubi 2007). Bei über 80% der GEP-NEN konnte gezeigt werden, dass eine SSTR-Überexpression vorliegt. Weiterhin konnte ein Zusammenhang zwischen der SSTR-Expression und dem Differenzierungsgrad nachgewiesen werden: gut-differenzierte Tumore besitzen eine höhere SSTR-Expression als schlecht-differenzierte (Reubi et al. 1991, Reubi 1992). GEP-NEN exprimieren häufig mehrere SSTR-Subtypen. Dabei tritt der SSTR2 am häufigsten auf, gefolgt vom SSTR1 und dem SSTR5. Der SSTR3 kommt relativ selten vor und der SSTR4 ist häufig

nicht nachzuweisen (Reubi 2003). Auch in der Lokalisation der verschiedenen SSTR-Subtypen in den Zellen konnten Unterschiede identifiziert werden. Während die SSTR1, SSTR3 und SSTR5 vor allem intrazellulär lokalisiert sind, tritt der SSTR2A vor allem membranständig auf (Kulaksiz et al. 2002). In der Tabelle 9 sind die Merkmale der SSTR in GEP-NEN aufgeführt.

Tabelle 9: Somatostatinrezeptor-Expression in gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Tumoren (Reubi 2007)

Rezeptormerkmal	Charakteristika
Inzidenz	80-100%
Dichte	überwiegend hoch
Verteilung	überwiegend homogen
Expression	differenzierter Tumor > undifferenzierter Tumor
Subtyp	SSTR2A >> SSTR1 = SSTR5> SSTR3 >> SSTR4
Lokalisation	SSTR2A membranständig

2.4 Chemokine

2.4.1 Aufbau und Klassifikation der Chemokine

Chemokine sind kleine proinflammatorische, chemotaxische Zytokine mit einem Molekulargewicht zwischen 8 und 12 kDa, welche an G-Protein-gekoppelte Rezeptoren binden und an der Regulation der Zellbewegung und Zelladhäsion beteiligt sind (Teicher und Fricker 2010). Die Hauptaufgabe von Chemokinen besteht darin, den Immunzellen eine Navigationshilfe zu bieten, um eine gerichtete Wanderungsbewegung zu induzieren. Diese zielgerichtete Bewegung von Immunzellen erfolgt anhand eines Konzentrationsgefälles zum Ort der höheren Chemokinkonzentration, was als Chemotaxis bezeichnet wird (Rink et al. 2012). Die Einteilung von Chemokinen erfolgt in die 4 Untergruppen CC-, CXC-, XC- und CX3C-Chemokine anhand der Aminosäuresequenz am aminoterminalen Ende. Maßgebend dafür sind die Anzahl und die Anordnung von Cysteinresten, die über Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Das C steht für einen Cysteinrest und das X für einen beliebigen Aminosäurerest zwischen den Cysteinresten. Die CC-Chemokine besitzen zwei direkt nebeneinander liegende Cysteinreste an ihrem aminoterminalen Ende. Bei den CXC-Chemokinen sind die beiden Cysteinreste durch eine, bei den CX3C-Chemokinen durch drei andere beliebige Aminosäuren voneinander getrennt. Weiterhin werden die Chemokine durchnummeriert und mit dem Buchstabe „L“ versehen, da sie als Liganden für die jeweiligen dazugehörigen Rezeptoren fungieren. Bisher hat man über 50 verschiedene

Chemokine identifiziert (Chensue 2001, Fernandez und Lolis 2002, Modrow et al. 2010). Bezüglich ihrer Funktionen kann man die Chemokine in zwei große Gruppen unterteilen: inflammatorische (oder induzierbare) Chemokine und homöostatische (oder konstitutive) Chemokine. Inflammatorische Chemokine sind Mediatoren der angeborenen Immunantwort und werden im Rahmen einer Infektion von Endothelzellen und aktivierten Immunzellen, wie Phagozyten, gebildet und in die Umgebung des Infektionsortes ausgeschüttet. Die Hauptaufgabe besteht darin, zusätzlich Monozyten, Makrophagen und neutrophile Granulozyten in das entzündete Gewebe zu rekrutieren. Dieser Chemokingradient existiert für eine bestimmte Zeit und wird später wieder zurückreguliert. Homöostatische Chemokine werden im Gegensatz zu den inflammatorischen Chemokinen kontinuierlich in den lymphatischen Organen gebildet. Sie sind beteiligt an der Organentwicklung, der Angiogenese und der Feinlokalisierung der Immunzellen in den Lymphknoten, im Thymus und anderen lymphatischen Organen (Modrow et al. 2010, Rink et al. 2012). In Bezug auf die vorliegende Arbeit ist die Tatsache, dass Chemokine und ihre Rezeptoren eine entscheidende Rolle bei Metastasierungsprozessen spielen, von großer Wichtigkeit (Drury et al. 2011).

2.4.2 Das Chemokin SDF-1

Das Chemokin SDF-1 (stromal cell-derived factor-1), auch CXCL12 genannt, ist der derzeit einzige bekannte natürliche Ligand des CXCR4. Zurzeit sind sechs verschiedene Isoformen (CXCL12 α , CXCL12 β , CXCL12 γ , CXCL12 ϵ und CXCL12 ϕ) bekannt, wobei das CXCL12 α und das CXCL12 β die am gründlichsten untersuchten Formen sind. Die verschiedenen Isoformen unterscheiden in der Anzahl zusätzlicher Aminosäuren am Carboxyterminus (Wong und Korz 2008). Das Chemokin CXCL12 bindet sowohl an den CXCR4- als auch an den CXCR7-Rezeptor. Die wichtige Funktion der homöostatischen Chemokine besteht in der Regulation der Chemotaxis der hämatopoetischen Zellen und im Aufbau sekundär lymphatischer Organe (Teicher und Fricker 2010). Über die Rolle von SDF-1 bei malignen Neoplasien gibt es noch sehr wenige Informationen. Neben einer Expression in normalem Gewebe wurde der Ligand des CXCR4 in Primärtumoren von Lymphomen, Gliomen, Ovarialkarzinomen und Pankreaskarzinomen nachgewiesen (Balkwill 2004a). Das CXCL12 weist eine Vielzahl von Effekten im Hinblick auf die Tumorentwicklung auf und scheint eine zentrale Rolle für die Erleichterung von Metastasierungsvorgängen, der Mobilisierung von Tumorzellen und der Rekrutierung von hämatopoetischen Zellen zu spielen. Eine hohe CXCL12-Konzentration

fördert das Überleben von Tumorzellen, die Angiogenese und die Metastasierung (Sun et al. 2010).

2.5 Chemokinrezeptoren

Chemokinrezeptoren befinden sich in der Lipiddoppelschicht der Zellmembran und gehören wie die SSTR zu der Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Sie besitzen die typischen sieben Transmembrandomänen und bilden die Bindungsstelle für Chemokine (siehe Abbildung 3) (Fernandez und Lolis 2002). Die Klassifikation der Chemokinrezeptoren erfolgt anhand ihrer Liganden in C-, CC-, CXC- und CX₃C-Chemokinrezeptoren. Die Benennung der Chemokinrezeptoren erfolgt in Anlehnung an die Chemokine, die an sie binden. Dementsprechend heißt ein Chemokinrezeptor, an welchen ein CXC-Chemokin bindet, CXCR. Der Buchstabe „R“ steht für Rezeptor. Chemokinrezeptoren sind bei einer Vielzahl von immunregulatorischen Aufgaben beteiligt. Sie steuern die Migration immunkompetenter Zellen, die Entwicklung sekundär lymphatischer Organe, wirken als Wachstumsfaktor-Rezeptoren und sind an der Regulierung der (Tumor)-Angiogenese beteiligt (Rossi und Zlotnik 2000).

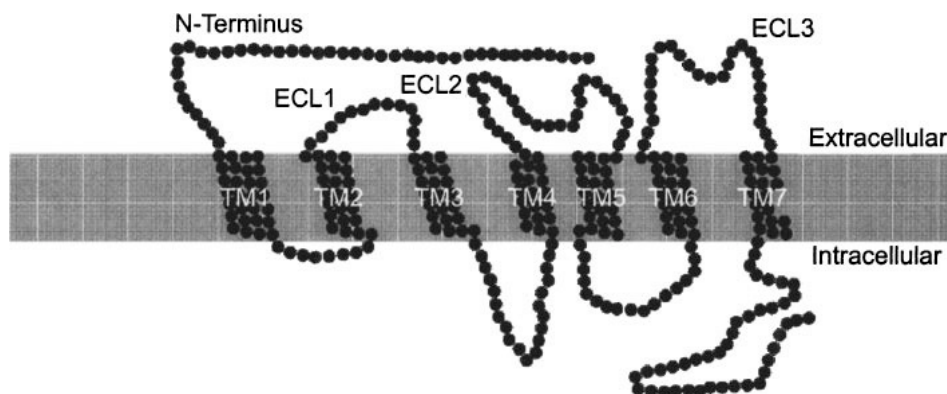


Abbildung 3: Aufbau eines Chemokinrezeptors (Fernandez und Lolis 2002); TM: Transmembraneinheit, ECL: extracellular loop

2.5.1 Der Chemokinrezeptor CXCR4

Das Rezeptorprotein CXCR4 gehört zu den Chemokinrezeptoren und ist eines der am besten erforschten Chemokinrezeptoren, da es eine entscheidende Rolle als Co-Rezeptor beim Eintritt des HI-Virus in die Zelle spielt. Der CXCR4 ist ein Transmembranprotein aus der Gruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren und besteht aus 354 Aminosäuren. Der einzige natürliche Ligand des Chemokinrezeptors CXCR4 ist das Chemokin SDF-1 (Furusato et

al. 2010). Exprimiert wird der Chemokinrezeptor CXCR4 physiologischerweise in verschiedenen hämatologischen Zellen wie z.B. in T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, Monozyten und Makrophagen, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten, aber auch in verschiedenen Organen wie z.B. in Gehirn, Lunge, Kolon, Herz, Niere und Leber (Teicher und Fricker 2010). Eine entscheidende Rolle wird dem CXCR4 bei der Embryogenese, Hämatopoese, Organogenese und Vaskularisation zugesprochen (Wong und Korz 2008).

2.5.1.1 Signaltransduktion des Chemokinrezeptors CXCR4

Durch die Bindung des Chemokins SDF-1 an den CXCR4 kommt es zur Dimerisierung. Der dimere Zustand des Rezeptors scheint Voraussetzung für die Aktivierung weiterer Signaltransduktionskaskaden zu sein (Wong und Korz 2008).

An dem Chemokinrezeptor CXCR4 ist meist eine $G\alpha_i$ -Untereinheit gebunden, es wird aber davon ausgegangen, dass dieser auch mit $G\alpha_q$ - oder $G\alpha_s$ -Untereinheiten assoziiert sein kann (Teicher und Fricker 2010).

Eine wichtige Rolle spielen die Chemokine bei der Lymphozytenmigration, wobei die Regulation über die Aktivierung des CXCR4 erfolgt. Die PI3-Kinase spielt hierbei eine entscheidende Rolle und kann durch die $G\alpha$ - oder $G\beta\gamma$ -Untereinheit aktiviert werden. Die Aktivierung der PI3-Kinase führt zur Phosphorylierung von verschiedenen Proteinen wie Prolin-reiche Kinase-2 (Pyk-2), Crk-assoziiertes Substrat (p130Cas), fokalen Adhäsions-Kinasen (FAK), Paxilin, Nck, Crk und Crk-L. Die Chemotaxis kann durch die Aktivierung der PKC und des Enzyms MAPK oder durch das Protein ERK1/2 erreicht werden.

Die PI3-Kinase führt zur Aktivierung der Serin-Threonin-Kinase AKT, welche eine Schlüsselfunktion in Bezug auf das Überleben von Tumorzellen und der Tumorpherifation einnimmt. Auch die Proteine P38 und ERK1/2 besitzen eine Bedeutung hinsichtlich des Überlebens von Tumorzellen.

Nach der Kopplung des Liganden an den CXCR4 kommt es zur Internalisierung des Rezeptors. Am intrazellulären Carboxy-Terminus des Rezeptors werden die Serine und Threonine durch G-Protein-gekoppelte-Rezeptor-Kinasen (GRK) phosphoryliert und anschließend erfolgt die Rekrutierung von β -Arrestin und die Clathrin-vermittelte Endozytose des Rezeptors (Teicher und Fricker 2010). Der CXCR4 gelangt jetzt in das

Endosom. Von dort kann er wieder an die Zelloberfläche gebracht oder abgebaut werden (Signoret et al. 1998).

2.5.1.2 Bedeutung des Chemokinrezeptors CXCR4 bei der Entstehung von malignen Neoplasien

Eine verstärkte Expression zeigt der Chemokinrezeptor CXCR4 bei malignen Tumorerkrankungen. Besonders im Rahmen der Metastasierung spielt der CXCR4 eine entscheidende Rolle, die durch seinen Liganden, dem Chemokin SDF-1, vermittelt wird (Wong und Korz 2008). Durch die Interaktion zwischen dem SDF-1 und dem CXCR4 kommt es zu einer Förderung des Tumorwachstums und zu einer Steigerung der Tumorangiogenese (Wald et al. 2013). In Organen mit hohen Konzentrationen an SDF-1, wie in der Leber, der Lunge, dem Knochenmark oder den Lymphknoten, kommt es zu einer gehäuften Metastasierung, da die malignen Zellen vermehrt CXCR4 exprimieren und eine zielgerichtete Bewegung anhand des SDF-1-Gradienten stattfindet. Der CXCR4 gilt bei verschiedenen Tumorerkrankungen, wie z.B. Leukämien, Brust-, Lungen-, Prostata-, Eierstock- und Darmkrebs, auch als prognostischer Marker, da die SDF-1/CXCR4-Achse eine elementare Bedeutung in der Tumorprogression spielt (Debnath et al. 2013).

Bisher konnte bei verschiedenen malignen Erkrankungen eine CXCR4-Expression nachgewiesen werden, wie beispielsweise in Brustkrebs, Prostatakrebs, akuter myeloblastischer Leukämie, Non-Hodgkin-Lymphomen, kleinzelligen Bronchialkarzinomen, Melanomen oder Gliomen (Balkwill 2004b). Des Weiteren beeinflusst die SDF-1/CXCR4-Achse das Wachstum des Tumors, indem es die Tumorangiogenese im malignen Gewebe begünstigt. Eine hohe Konzentration an SDF-1 im Tumorgewebe sorgt dafür, dass CXCR4-positive Zellen wie hämatopoetische Stammzellen und Stammzellen von Endothelzellen und glatten Muskelzellen chemotaktisch in den Tumor wandern und die Angiogenese begünstigen (Teicher und Fricker 2010). Somit weist die Tumorzellmigration im Zusammenhang mit Metastasierungsvorgängen große Ähnlichkeiten mit der Lymphozytenmigration im Rahmen von Entzündungsreaktionen auf, da sie denselben Chemokin-vermittelten Gradienten nutzen.

Am Beispiel von Mamma-Karzinomen konnten Müller et al. (2001) zeigen, dass es durch die CXCR4-Aktivierung bei Tumorzellen zu einer gesteigerten Aktinpolymerisation und damit zur

Ausbildung von Pseudopodien kommt. Dadurch wird den Krebszellen eine gerichtete Bewegung ermöglicht, was Voraussetzung für invasives Wachstum ist.

2.5.1.3 Vorkommen des CXCR4 bei neuroendokrinen Neoplasien

Die Datenlage zur CXCR4-Expression in gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Neoplasien ist sehr limitiert. Die Forschergruppe um Deschamps konnte beispielsweise zeigen, dass eine hohe CXCR4-Expression bei neuroendokrinen Tumoren mit einem signifikant erhöhten Anteil an Lymphknotenmetastasen, einem fortgeschrittenen T-Stadium, einer Perineuralscheideninfiltration und einem reduzierten Gesamtüberleben assoziiert ist (Deschamps et al. 2012). Auch Kaemmerer et al. (2015b) berichteten über einen Anstieg der CXCR4- und einer Abnahme der SSTR2A-Expression im Tumorgewebe mit zunehmender Malignität der neuroendokrinen Tumore. Weiterhin war eine verstärkte CXCR4-Expression mit einer schlechten Prognose und einem verminderten Gesamtüberleben der Patienten assoziiert, während eine vermehrte SSTR2A-Expression mit einer guten Prognose verbunden war (Kaemmerer et al. 2015b).

2.5.1.4 CXCR4-Nachweis mit dem ^{68}Ga -CPCR4-2-PET/CT

Durch die Entwicklung des hochsensitiven und spezifischen Liganden ^{68}Ga -CPCR4-2 (cyclo(D-Tyr1-D-[NMe]Orn2-[AMBS-DOTA]-Arg3-2-Nal4-Gly5)), welcher in vivo an den CXCR4 bindet, erwartet die Forschergruppe um Gourni et al. (2011), in Zukunft eine gezielte Diagnostik von CXCR4-positiven Neoplasien zu ermöglichen (Gourni et al. 2011). In diesem Fall wird ein spezifischer CXCR4-Ligand mit dem Radionuklid Gallium gekoppelt, so dass dieser mit einer PET detektiert werden kann. Durch die spezifische Bindung des Liganden an seinen Rezeptor können so CXCR4-positive Tumore oder Metastasen sichtbar gemacht werden. Durch den Zerfall des instabilen Galliums, welches eine Halbwertszeit von 68 Minuten besitzt, werden Positronen ausgesendet, die von einem Scanner detektiert werden können. Durch die Kombination der PET mit einer CT können präzise Angaben zur Tumorlokalisation und Tumorgroße gemacht werden, was für das weitere therapeutische Vorgehen von entscheidender Wichtigkeit sein kann (Demmer et al. 2011).

Somit steht mit ^{68}Ga -Pentixafor (^{68}Ga -CPCR4-2) ein neuer Tracer für die Positronenemissionstomographie zur Verfügung, um CXCR4 exprimierende Zellen darzustellen. So konnte unter Verwendung des neuen Tracers ^{68}Ga -Pentixafor bei Patienten mit multiplen Myelom die CXCR4-Expression mittels PET-CT und PET-MRT dargestellt

werden. ^{68}Ga -Pentixafor wurde von den Patienten gut vertragen und relevante Nebenwirkungen wie eine Mobilisierung von CXCR4-positiven Stammzellen im peripheren Blut wurden nicht beobachtet. Auch bei Patienten mit T-Zell-Lymphomen konnte die CXCR4-Expression mit dem neuen Tracer gezeigt werden (Avanesov et al. 2015, Wester et al. 2015). Lapa et al. (2016) konnten erstmals bei Patienten mit einem kleinzelligen Bronchialkarzinom die CXCR4-Expression mit der PET-CT unter Verwendung des radiomarkierten Chemokin-Liganden ^{68}Ga -Pentixafor nachweisen. Die Forschergruppe um Werner et al. (2017) untersuchte in einer aktuellen Studie die verschiedenen Möglichkeiten der nicht-invasiven CXCR4-PET/CT bei Patienten mit einem GEP-NET. Dabei stellten sie fest, dass ^{68}Ga -Pentixafor und ^{18}F -Fluordesoxyglukose im Vergleich zu ^{68}Ga -DOTA-TOC bei Patienten mit einem hochproliferativen neuroendokrinen Tumor (G3) überlegen sind (Werner et al. 2017).

Angesichts der hohen Bindungsaffinität von ^{68}Ga -Pentixafor zum CXCR4, dem niedrigen Risikoprofil und der Signalstärke in der PET könnten sich in der Zukunft erfolgsversprechende diagnostische und therapeutische Optionen bei onkologischen Erkrankungen ergeben. Neoplasien mit einer verstärkten CXCR4-Expression könnten spezifisch identifiziert werden, um eine zielgerichtete Rezeptorradionuklidtherapie mit einem an Pentixafor gekoppelten Betastrahler wie ^{177}Lu oder ^{90}Y durchzuführen. Weiterhin könnte ^{68}Ga -Pentixafor als Biomarker für das Therapieansprechen nach Radionuklidtherapie angewendet werden (Avanesov et al. 2015).

3 Ziele der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung von verschiedenen gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Neoplasien auf das Vorhandensein der Somatostatinrezeptoren SSTR1, SSTR2A, SSTR3, SSTR4 und SSTR5 sowie des Chemokinrezeptors CXCR4. Dazu wurden von den Tumoren immunhistochemische Färbungen angefertigt und mit Hilfe eines Scores, der sowohl die Färbeintensität als auch den Prozentsatz an positiv gefärbten Tumorzellen berücksichtigt, ausgewertet.

Hierbei sollten folgende Punkte betrachtet werden:

1. Die Beurteilung der Expressionsunterschiede zwischen Primärtumoren verschiedener intestinaler Lokalisationen (Pankreas, Duodenum-Ileum, Kolon-Rektum).
2. Die Beurteilung der Expressionsunterschiede zwischen den Metastasen von Primärtumoren verschiedener intestinaler Lokalisationen (Pankreas, Duodenum-Ileum, Kolon-Rektum).
3. Die Gegenüberstellung der Expressionsunterschiede zwischen den Primärtumoren und den zugehörigen Metastasen.

Weitere Fragestellungen umfassten u.a. das Ausmaß der Expression der verschiedenen Rezeptoren im Bezug zum Grading der gastroenteropankreatischen Neoplasien.

Gastroenteropankreatische neuroendokrine Neoplasien stellen eine heterogene und seltene Entität dar. Durch eine präzise Kenntnis über die Verteilung der Expression der verschiedenen SSTRs in GEP-NEN, könnte diese Arbeit eine Grundlage darstellen, um die aktuellen diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten zu optimieren.

Der CXCR4 spielt eine entscheidende Rolle in der Tumorprogression und Metastasierung. Deshalb sollte die Frage bearbeitet werden, ob sich die CXCR4-Expression in GEP-NEN für weitere diagnostische und therapeutische Zwecke eignet.

4 Materialien und Methoden

4.1 Materialien

4.1.1 Tumorproben und Anfertigung der Paraffinschnitte

Für die immunhistochemischen Untersuchungen wurden insgesamt 126 Tumorblöcke aus dem Labor für Zytologie und Pathologie Bad Berka sowie der Zentralklinik Bad Berka zur Verfügung gestellt. Dabei handelte es sich um in Paraffin eingebettete Proben von gastroenteropankreatischen Tumoren von 40 Patienten, bestehend aus Primärtumoren und Metastasen.

Alle klinischen Angaben wurden aus den pathologischen Befunden und den ärztlichen Dokumenten der Patienten der Zentralklinik Bad Berka entnommen. Für diese retrospektive Untersuchung lag von der Ethikkommission der Landesärztekammer Thüringen ein positives Votum vor.

Mit Hilfe eines Rotationsmikrotoms wurden aus den Paraffinblöcken Gewebeschnitte mit einer Dicke von 4 µm angefertigt, auf Poly-L-Lysin-beschichtete Objektträger aufgebracht und luftgetrocknet.

4.1.2 Substanzen für die Immunhistochemie

Aminoethylcarbazol (AEC)	BioGenex, San Ramon, CA, USA
Ammoniak (25%)	Merck, Darmstadt, Deutschland
DABCO	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Depex-Eindeckmittel	SERVA Elektrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland
Dinatrium-Hydrogenphosphat-Dihydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$)	Merck, Darmstadt, Deutschland
Eosin	Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
Ethanol	Nordbrand, Nordhausen, Deutschland
Glycerin	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland

Kaliumchlorid (KCl)	Merck, Darmstadt, Deutschland
Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)	Merck, Darmstadt, Deutschland
Mayer's Hämatoxylin	Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
Methanol	Merck, Darmstadt, Deutschland
Mowiol 4-88	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Natriumchlorid (NaCl)	Merck, Darmstadt, Deutschland
Natriumcitrat	Merck, Darmstadt, Deutschland
Rinderserumalbumin (RSA)	Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
Tris-Hydrochlorid	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Wasserstoffperoxid (30%)	Merck, Darmstadt, Deutschland
Xylol	Merck, Darmstadt, Deutschland
Zitronensäure	Merck, Darmstadt, Deutschland

4.1.3 Lösungen und Puffer

Citrat-Puffer (0,01 M, pH 6,0)

18 ml Stammlösung A

82 ml Stammlösung B

+ 900 ml Aqua bidest.

Stammlösung A (0,1 M)

21,01 g Zitronensäure ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times \text{H}_2\text{O}$)

in 1000 ml Aqua bidest. lösen

Stammlösung B (0,1 M)

29,41 g Natriumcitrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \times \text{H}_2\text{O}$)

in 1000 ml Aqua bidest. Lösen

PBS-Puffer (Phosphat-gepufferte Salzlösung, pH 7,4)

8,18 g Natriumchlorid (NaCl)

1,77 g Di-Natrium-Hydrogen-Phosphat-Dihydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$)

0,20 g Kaliumchlorid (KCl)

0,24 g Kalium-Dihydrogenphosphat (KH_2PO_4)

in 1000 ml Aqua bidest. lösen

PBS-Puffer mit 1% RSA

5 g RSA

495 ml PBS-Puffer

Färbelösung AEC für 10 ml (Verhältnis 1:5)

8 ml Aqua bidest.

2 ml fünffach konzentrierter Acetat-Puffer

4 Tropfen AEC

Blockierlösung

10 ml PPBS/RSA 1%

150 µl normales Ziegen- bzw. Pferdeserum

Sekundär-Antikörper

10 ml PBS/RSA 1%

150 µl normales Ziegenserum

50 µl biotinylierter Ziegen-Anti-Kaninchen-Antikörper

Avidin-Peroxidase-Komplex

10 ml PBS/RSA 1%

200 µl Streptavidin (Lösung A)

200 µl biotinylierte Meerrettichperoxidase (Lösung B)

Ammoniaklösung zur Hämatoxylin-Bläuerung

1,4 ml 25%iger Ammoniak
auf 250 ml Aqua bidest.

Wasserstoffperoxid-Methanol-Lösung 0,3%

2 ml Wasserstoffperoxid 30% (H₂O₂)
198 ml Methanol (CH₃OH)

Mowiol

6 g Glycerin
2,4 g Mowiol 4-88
6 ml Aqua bidest.
12 ml 0,2 M Tris-HCl (pH 8,5)
25 mg/ml Lösung DABCO

4.1.4 Geräte und sonstige Materialien

Deckgläser	Menzel-Gläser, Braunschweig, Deutschland
Glas-Färbeküvetten	Medite GmbH, Burgdorf, Deutschland
Laborwaage	Sartorius AG, Göttingen, Deutschland
Magnetrührer	Schott Instruments GmbH, Mainz, Deutschland
Mikroskop Axio Imager A1	Carl Zeiss, Jena, Deutschland
Mikrowelle CB 1271	Bomann, Kempen, Deutschland
Plastikküvetten	Medite GmbH, Burgdorf, Deutschland
Poly-L-Lysin-beschichtete Objektträger (Superfrost®plus)	Thermo Scientific, Menzel-Gäser, Braunschweig, Deutschland
Rotationsmikrotom	Microm, Walldorf, Deutschland
Sequenza®-Färbesysteme	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA

4.2 Antikörper

Bei der Auswahl der Primärantikörper muss zwischen monoklonalen und polyklonalen Antikörpern (AK) unterschieden werden.

Das konventionelle Verfahren zur Herstellung von polyklonalen Antikörpern beruht auf einer Immunisierung von Versuchstieren (z.B. Mäuse, Kaninchen, Ziegen, Schafe). Nach der Injektion des Antigens können nach einigen Wochen die Antikörper im Serum der Tiere nachgewiesen werden. Die gewonnenen Antikörper bestehen aus einem Gemisch von Immunglobulinen, welche bereits vor der Immunisierung vorhanden waren, und den für das Antigen spezifischen Immunglobulinen. Aufgrund der hohen Anzahl an vorhandenen unterschiedlichen Antikörpern kann es zu unerwünschten Kreuzreaktionen mit anderen Proteinen als der gewünschten Zielstruktur kommen.

Die Erzeugung von monoklonalen Antikörpern basiert auf der Hybridom-Technologie von Köhler und Milstein. Bei dieser Methode werden die Versuchstiere ebenso immunisiert. Nach erfolgtem Auslösen der Immunantwort werden aus der Milz der Tiere die B-Lymphozyten isoliert. Anschließend erfolgt die Fusion der Antikörper-produzierenden B-Lymphozyten mit Myelomzellen. Die schließlich gewonnenen „unsterblichen“ Hybridomzellen produzieren die spezifischen Antikörper für eine unbegrenzte Zeit und immer in der gleichen Qualität (Dübel et al. 2004).

In der Tabelle 10 sind die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Primärantikörper zusammengestellt.

Tabelle 10: Charakteristika der verwendeten Primärantikörper

Humaner Rezeptor (Aminosäurenummer)	Antikörper	Klonnummer	Antigen Sequenz des Peptids
SSTR1 (377-391)	UMB-7	11/12	ENLESGGVFRNGTCTSRITTL
SSTR2 (355-369)	UMB-1	97/1	ETQRTLLNGDLQTSI
SSTR3 (398-418)	UMB-5	31/10	QLLPQEASTGEKSSTMRISYL
SSTR4 (366-388)	4802		CQQEALQPEPGRKRIPLTRTTTF
SSTR5 (344-364)	UMB-4	30/5	QEATPPAHRAAANGLMQTSKL
CXCR4 (338–359)	UMB-2	232/8	KGKRGHSSVSTESSSFHSS
Ki-67-Antigen	Ki-67	MIB-1	(FKELF) ¹¹

Primärantikörper

Bei den Antikörpern UMB-1, UMB-2, UMB-4, UMB-5 und UMB-7 handelt es sich um monoklonale Kaninchen-Antikörper, welche selektiv an das spezifische Antigen am carboxyterminalen Ende der SSTR oder des CXCR4 binden. Der Anti-SSTR4-Antikörper 4802 ist ein polyklonaler Antikörper. Die Zellklone für die Herstellung der verwendeten monoklonalen Antikörper wurden im Auftrag des Instituts für Pharmakologie und Toxikologie des Universitätsklinikums Jena von der Firma Eptomics (Burlingame, CA, USA) hergestellt und zur Verfügung gestellt. Der polyklonale Anti-SSTR4-Antikörper wurde von der Firma Gramsch Laboratories (Schwabhausen, Deutschland) erworben. Der monoklonale Maus-Anti-Ki-67-Antikörper (MIB-1) wurde von der Firma DAKO (Glostrup, Dänemark) bezogen. Die Verdünnung der Primärantikörper erfolgte entsprechend der Tabelle 11.

Tabelle 11: Verdünnung der verwendeten Antikörper

Antikörper	humaner Rezeptor/Antigen	Verdünnung
UMB-7	hSSTR1	1:25
UMB-1	SSTR2A	1:10
UMB-5	hSSTR3	1:20
(4802)	hSSTR4	0,5 µg/ml
UMB-4	hSSTR5	1:10
UMB-2	CXCR4	1:2 (1+1)
Ki-67 (MIB-1)	Ki-67-Antigen	1:50

Sekundärantikörper

Bei den Immunfärbungen zum Nachweis der SSTRs und des CXCR4 wurde ein Ziegen-Anti-Kaninchen-Antikörper und beim Nachweis des Ki-67-Antigens ein Pferd-Anti-Maus-Antikörper als Sekundärantikörper eingesetzt, der kovalent an Biotin gekoppelt ist und artspezifisch an den Primärantikörper bindet. Die Sekundärantikörper stammten aus den Vectastain-ABC Kits „rabbit“ oder „mouse“ der Firma Vector Laboratories (Burlingame, CA, USA).

4.3 Immunhistochemie

4.3.1 Darstellung der Methode

Die Immunhistochemie dient dem Nachweis von gesuchten Antigenen innerhalb von Geweben mit Hilfe von Antikörpern.

Der Nachweis der SSTR-Subtypen 1-5, des Chemokinrezeptors CXCR4 und des Ki-67-Antigens erfolgte über ein indirektes immunhistochemisches Nachweisverfahren, der Streptavidin-Biotin-Methode (Abbildung 4). Bei dieser Methode koppelt der Primärantikörper an dem Epitop des gesuchten Antigens, in diesem Fall die SSTR-Subtypen, der CXCR4-Rezeptor oder das Ki-67-Antigen. Anschließend bindet der Sekundärantikörper, der gegen den Primärantikörper gerichtet ist. Da der Sekundärantikörper biotinyliert ist, wird dieser von dem Streptavidin-Biotin-Peroxidase-Komplex erkannt. Die gebundene Meerrettichperoxidase in diesem Enzymkomplex kann mit dem Substrat 3-Amino-9-Ethyl-Carbazol (AEC), einem Chromogen, reagieren und ermöglicht eine Rotfärbung der gesuchten Zielstrukturen (Böcker et al. 2012).

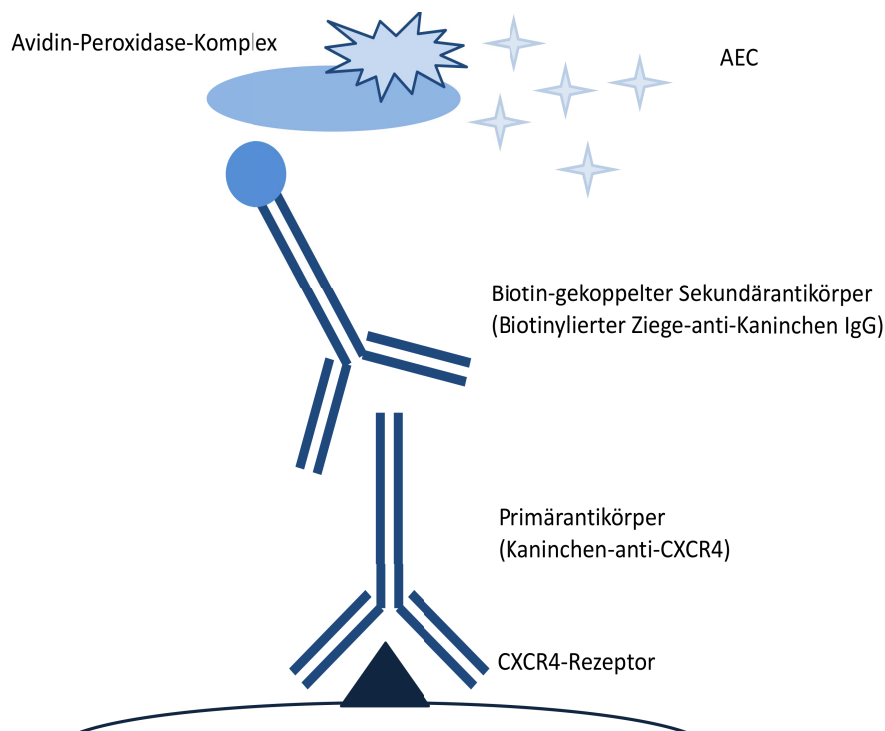


Abbildung 4: Funktionsprinzip der indirekten Streptavidin-Biotin-Peroxidase-Methode

4.3.2 Durchführung der immunhistochemischen Färbungen

Folgendes standardisiertes Protokoll wurde zur immunhistochemischen Darstellung der SSTR-Subtypen, des Chemokinrezeptors CXCR4 und des Proliferationsmarkers Ki-67 angewendet:

4.3.2.1 Entparaffinieren der Schnitte und Antigen-Demaskierung

Im ersten Schritt wurden die Objektträger in Glasküvetten einsortiert. Anschließend folgten folgende Arbeitsschritte:

1. Entparaffinieren

Die Proben wurden durch eine dreimalige Inkubation für jeweils 20 Minuten in Xylol entparaffiniert.

2. Entfernung des Xylols

Die Entfernung des Xylols erfolgte durch eine dreimalige Inkubation für jeweils 20 Minuten in 100%igem Ethanol.

3. Blockierung der endogenen Peroxidase

Um unspezifische Färbungen zu verhindern, wurden nun die Proben für 45 Minuten in einer Lösung aus Methanol und 0,3%igem H₂O₂ inkubiert.

4. Rehydrierung

Die Rehydrierung der Schnitte erfolgte in einer absteigenden Alkoholreihe nach folgendem Schema:

95% Ethanol 2 min

95% Ethanol 2 min

80% Ethanol 2 min

70% Ethanol 2 min

Aqua bidest. 5 min

Aqua bidest. 5 min

Für den nachfolgenden Schritt wurden die Objektträger aus den Glas-Küvetten in mit Citrat-Puffer (0,01 M, pH 6,0) gefüllte Plastik-Küvetten umsortiert.

5. Antigen-Demaskierung

In formalinfixiertem Gewebe bilden sich über Aldehydverbindungen Quervernetzungen zwischen den Proteinen. Diese können die Antigen-Antikörper-Reaktion beeinflussen; das Epitop des Antigens ist maskiert. Um eine bessere Antigen-Antikörper-Reaktion und somit eine höhere Signalintensität zu erreichen, sind verschiedene Verfahren zur Antigendemaskierung entwickelt worden.

Neben der enzymatischen Behandlung hat sich Anfang der 1990er Jahre eine hitzeinduzierte Demaskierung durchgesetzt. Eine handelsübliche Mikrowelle mit 600 – 800 Watt kommt hier zum Einsatz. Durch die Verwendung eines Citratpuffers (pH 6,0) wird eine zusätzliche Verbesserung des Ergebnisses erreicht (Shi et al. 1991).

Die Demaskierung wurde nach folgendem Schema durchgeführt:

Kochen für 8 min

Abkühlen für 4 min

Kochen für 4 min

Abkühlen für 4 min

Kochen für 4 min

Anschließend mussten die Präparate auf handwarm abkühlen (ca. 30 min) und für mindestens 5 Minuten in Aqua bidest. gestellt werden.

6. pH-Pufferung

Zur Absättigung der unterschiedlichen Ladungen innerhalb des Gewebes und um unspezifische Bindungen zu verhindern, wurden die Präparate anschließend für weitere 5 Minuten in PBS/RSA 1% inkubiert.

4.3.2.2 Antikörperbindung und Färbung

Für die weiteren Arbeitsschritte wurden nun die Objektträger aus den Plastikkuvetten in Sequenza®-Färbesysteme (Firma Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) einsortiert. Durch Einbringen der Präparate entsteht ein kapillärer Spalt zwischen Objektträger und Sequenza®-Färbesystem, über welchen die weiteren Lösungen zugegeben werden können. Folgende Arbeitsschritte wurden anschließend durchgeführt:

1. pH-Pufferung

Auf jeden Objektträger wurden 1500 µl PBS/RSA 1% aufgetragen. Dies erfolgte zur Absättigung unterschiedlicher Ladungen innerhalb des Gewebes und um die Richtigkeit der Positionierung der Objektträger in den Sequenza®-Färbesystemen zu prüfen.

2. Blockierung

Um Hintergrundfärbungen zu vermeiden, erfolgte eine Blockierung mit 150 µl normalem Ziegen- oder Pferdeserum, da der verwendete Sekundärantikörper aus der Ziege (SSTRs, CXCR4) oder dem Pferd (Ki-67) stammte.

3. Bindung des Antikörpers

Anschließend wurden 300 µl des spezifischen Antikörpers aufgetragen, welcher an den entsprechenden Rezeptor binden sollte. Es folgte eine abgedeckte Inkubation, um eine Austrocknung zu vermeiden, über Nacht bei 4°C.

4. Waschen der Schnitte

Am nächsten Tag wurden die Schnitte zweimal mit 1500 µl PBS/RSA 1% gewaschen, um nicht oder unspezifisch gebundene Antikörper zu entfernen.

5. Bindung des Sekundärantikörpers

Es wurden anschließend 150 µl Sekundärantikörper aufgetragen und anschließend die Präparate für 30 Minuten inkubiert.

6. Waschen der Schnitte

Es folgte ein erneutes Spülen der Schnitte mit 1500 µl PBS/RSA 1%, um nicht oder unspezifisch gebundene Antikörper zu entfernen.

7. Bindung des Avidin-Peroxidase-Komplexes

Dann erfolgten die Zugabe von 150 µl des enzymgekoppelten Komplexes und eine anschließende Inkubation für 30 Minuten.

8. Waschen der Schnitte

Danach wurden die Schnitte erneut mit 1500 µl PBS/RSA 1% gespült, um nicht oder unspezifisch gebundene Komplexe zu entfernen.

9. Färbung der antikörpergebundenen Bereiche

Die Färbung erfolgte mit 2 mal 150 µl der Chromogen-Lösung 3-Amino-9-Ethyl-Carbazol (AEC) und anschließender Inkubation für 2 mal 15 Minuten.

Die Färbung der antikörpergebundenen Bereiche wurde wiederholt, um eine Signalverstärkung zu erreichen.

10. Stoppen der Reaktion

Durch anschließendes Spülen mit 1500 µl Aqua bidest. wurde die Färbereaktion des Chromogens gestoppt.

4.3.2.3 Gegenfärbung mit Hämatoxylin

Für die Hämatoxylin-Gegenfärbung wurden die Objektträger aus den Sequenza®-Färbesystemen in Glas-Färbeküvetten zurücksortiert. Die Gegenfärbung der Gewebeschnitte mit Mayer's Hämatoxylin ermöglicht eine bessere Orientierung bei der Beurteilung der Präparate.

Die Gegenfärbung erfolgte nach folgendem Schema:

1. Waschen der Präparate mit Aqua bidest. für 1 Minute
2. Gegenfärbung der Zellkerne mit Mayer's Hämatoxylin für 50 Sekunden
3. Waschen der Präparate für 2,5 Minuten in mehrmals gewechseltem Aqua bidest.
4. Fünfmaliges Eintauchen der Präparate in Ammoniakwasser zur Hämatoxylin-Bläuung
5. Waschen der Präparate für 2,5 Minuten in mehrmals gewechseltem Aqua bidest.

4.3.2.4 Eindecken der Präparate

Die Präparate wurden abschließend mit Mowiol und Deckgläsern eingedeckt.

4.4 Auswertung

4.4.1 Immunhistochemie

Die semiquantitative Analyse der immunhistochemisch gefärbten Tumorproben erfolgte lichtmikroskopisch mit Hilfe des Immunreaktiven Scores (IRS) nach Remmele und Stegner (1987). Die erste immunhistochemische Evaluierung von Östrogen- und Progesteronrezeptoren mit diesem Score erfolgte in Geweben von Mamma-Karzinomen. Auch zur Beurteilung der Expression von Somatostatin-Rezeptoren in neuroendokrinen Neoplasien stellt der IRS ein geeignetes Verfahren dar (Specht et al. 2015). Die Bewertung der Tumorpräparate anhand des IRS ist in Tabelle 12 dargestellt. Hier wurden die Intensität der Färbung und der prozentuale Anteil der gefärbten Zellen im Gewebe berücksichtigt.

Die Berechnung des IRS erfolgt nach folgender Formel:

$$\text{IRS} = \text{Score (Anteil positiver Zellen)} \times \text{Score (Färbeintensität)}$$

Somit ergibt sich ein IRS-Wert zwischen 0 und 12.

Tabelle 12: Immunreaktiver Score (IRS) nach Remmele und Stegner

Score	Anteil positiver Zellen	Färbeintensität
0	keine positiven Zellen	keine Farbreaktion
1	<10% positive Zellen	schwache Färbereaktion
2	10–50% positive Zellen	mäßige Färbereaktion
3	51–80% positive Zellen	starke Färbereaktion
4	>80% positive Zellen	-

Die Auswertung des Ki-67 erfolgte durch eine mikroskopische Untersuchung der einzelnen Präparate. Es wurde eine Auszählung der Ki-67-positiven Zellkerne in 10 Gesichtsfeldern bei einer 400-fachen Vergrößerung durchgeführt. Daraus ergab sich der Prozentsatz an Ki-67-positiven-Zellen.

4.4.2 Statistik

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Programms IBM® SPSS® Statistics in der Version 21.0. Als erstes erfolgte die Überprüfung der Daten auf Normalverteilung durch den Kolmogorow-Smirnov-Test, die sich für keinen der untersuchten Parameter bestätigte.

Zunächst wurden die klinischen Daten und die in der immunhistochemischen Analyse gewonnenen Expressionsdaten für die SSTR1-5, den CXCR4 und das Ki-67 von allen Tumorproben zusammengekommen, von den Primärtumoren verschiedener Lokalisationen, von den Metastasen unterschiedlicher Herkunft, von den verschiedenen Primärtumorlokalisationen und den dazugehörigen Metastasen zusammengekommen (sowie aufgegliedert nach den Grading-Klassen) als deskriptive Häufigkeitsverteilungen im Form von Balkendiagrammen und Tabellen dargestellt.

Mit dem Mann-Whitney-Test wurde anschließend überprüft, ob es einen Unterschied in der Rezeptor- oder Ki-67-Expression zwischen den verschiedenen Primärtumoren und den dazugehörigen Metastasen, zwischen den Primärtumoren unterschiedlicher Lokalisation oder zwischen den Metastasen unterschiedlicher Herkunft gibt. Weiterhin wurde analysiert, ob sich Unterschiede zwischen den verschiedenen Grading-Klassen zeigen.

Um eine Erhöhung der Fallzahl der untersuchten Primärtumorlokalisationen zu erreichen, wurden dabei die Tumore des Duodenums und des Ileums und die Tumore des Kolons, der Appendix und des Rektums jeweils in einer Gruppe zusammengefasst.

5 Ergebnisse

5.1 Allgemeine Patientendaten

In die Arbeit konnten 40 Patienten mit einem histopathologisch gesicherten Befund eines GEP-NEN eingeschlossen werden. Von diesen Patienten standen teilweise mehrere Proben (Primärtumor und / oder Metastasen) zur Verfügung. Somit wurden insgesamt 126 Paraffin-Gewebeblöcke aufgearbeitet und immunhistochemisch untersucht. Die Gewebeproben teilten sich entsprechend der Primärtumorlokalisationen wie folgt auf (siehe Abbildung 5):

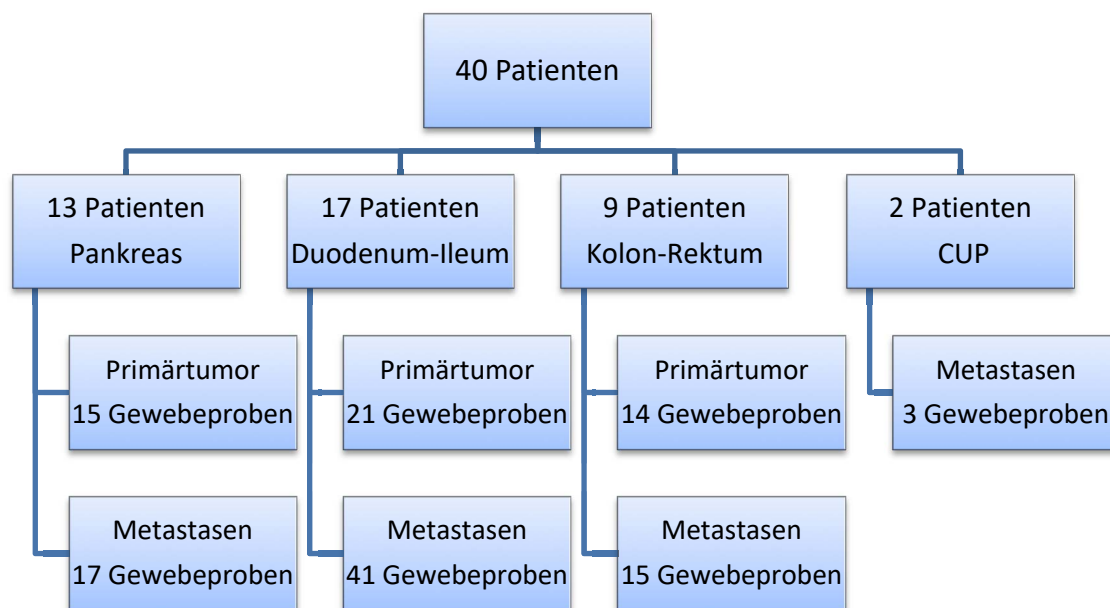


Abbildung 5: Verteilung der Tumorproben

Das mediane Durchschnittsalter der 40 Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung betrug 59,5 Jahre, mit einer Altersverteilung von 33 bis 82 Jahren. Die Altersverteilung ist in Abbildung 6 dargestellt. Der Anteil von Männern und Frauen betrug 20:20 (50%:50%) und war somit gleichmäßig verteilt.

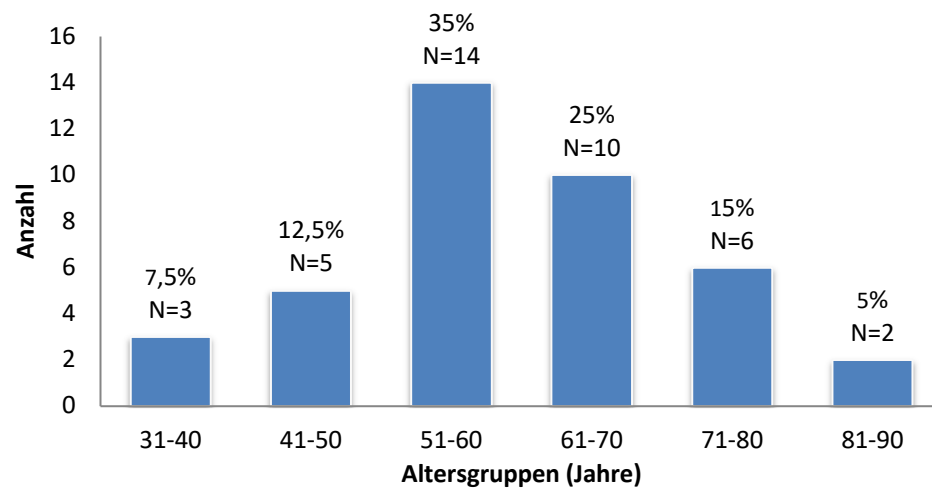


Abbildung 6: Altersverteilung der Patienten

5.2 Klinische Daten

5.2.1 Primärtumorlokalisation und Metastasierung

Die Lokalisation der 50 Primärtumor-Gewebeproben ist in Abbildung 7 dargestellt. Die häufigste Lokalisation der Primärtumor-Gewebeproben war mit 42% der Bereich des Dünndarms (Duodenum – Ileum; N=21). Weitere Lokalisationen waren mit 30% der Proben das Pankreas (N=15) und mit 28% der Proben das Pankreas (N=15) und mit 28% der Fälle das Kolon und Rektum (N=14).

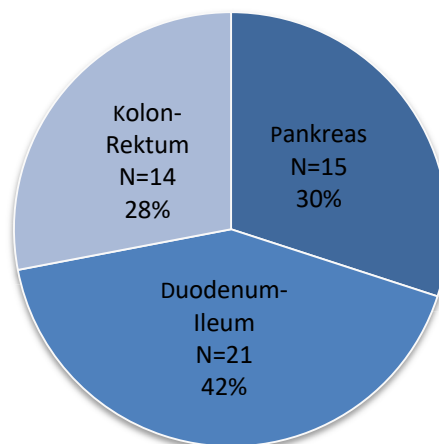


Abbildung 7: Lokalisation der Primärtumor-Gewebeproben (N=50)

Bei der Mehrzahl der Patienten (N=35, 87,5%) hatte bereits eine Metastasierung stattgefunden (siehe Abbildung 8).

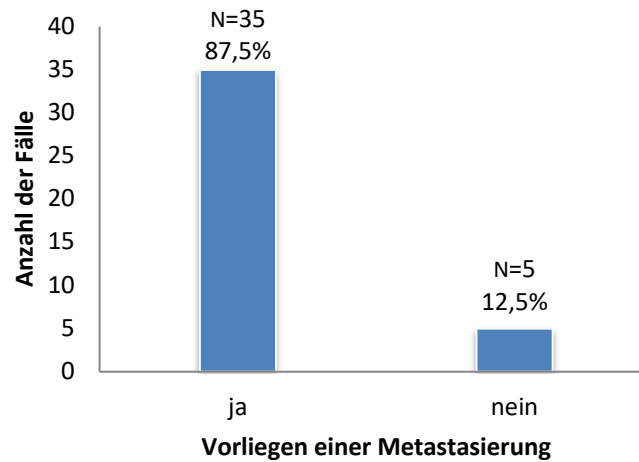


Abbildung 8: Vorliegen einer Metastasierung

Am häufigsten erfolgte die Metastasierung in die Lymphknoten (45%) und in die Leber (34%). Einen Überblick über die Lokalisation der Metastasen-Gewebeproben (N=76) gibt Abbildung 9.

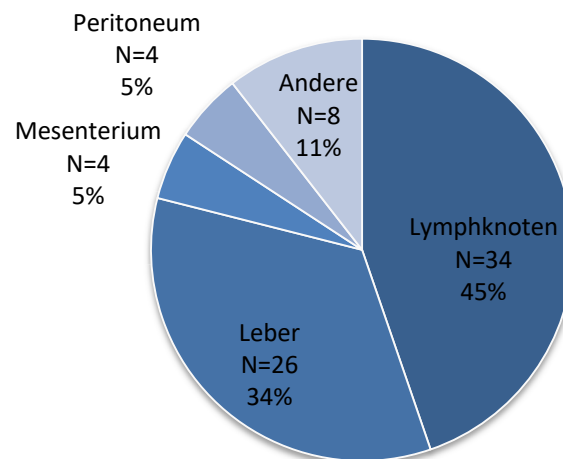


Abbildung 9: Lokalisation der Metastasen-Gewebeproben (N=76)

Aus Abbildung 10 sind die Metastasierungswege, aufgegliedert nach den untersuchten Primärtumorlokalisationen, zu ersehen. Bei pankreatischen neuroendokrinen Tumoren erfolgte vorwiegend eine hepatische Metastasierung (52,94%). Bei den Primärtumoren des Duodenum-Ileums (53,66%) und bei den Neoplasien des Kolon-Rektums (40%) traten vermehrt Lymphknotenmetastasen auf. Bei 3 Metastasen-Gewebeproben war die Lokalisation des Primärtumors nicht bekannt.

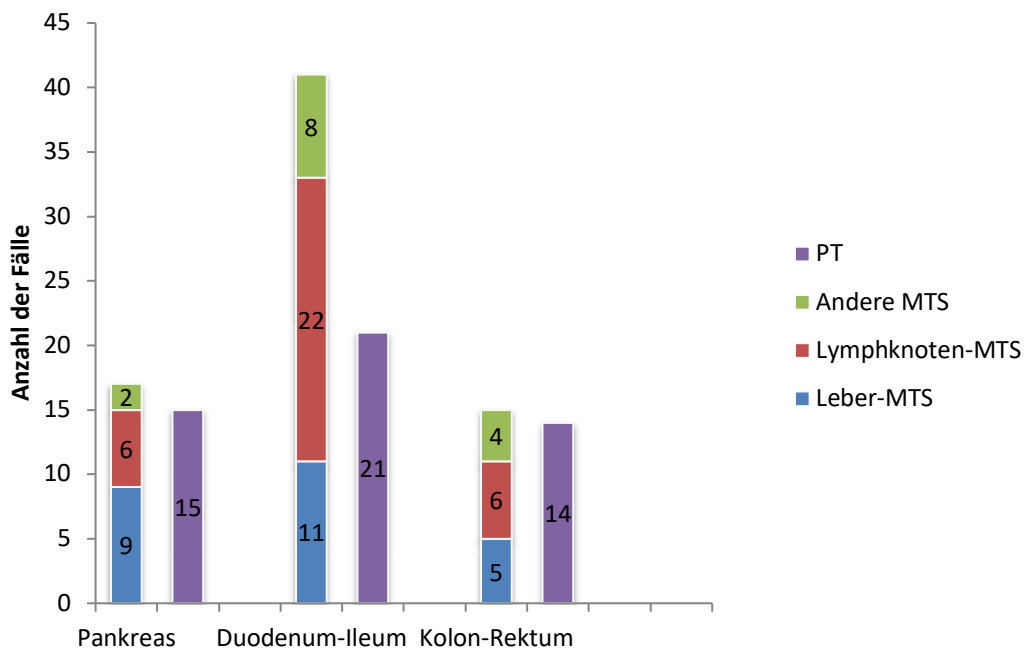


Abbildung 10: Metastasierungswege, aufgegliedert nach den Primärtumorlokalisationen, MTS: Metastase(n)

5.2.2 Grading

Das Tumor-Grading der Primärtumore der untersuchten Patienten ist in Abbildung 11 dargestellt. Von 39 Patienten hatten 12 (30,77%) einen gut differenzierten Tumor (G1-Stadium; Ki-67 <2%), bei 19 Patienten (48,72%) lag ein schlecht differenzierter Tumortyp (G2-Stadium; Ki-67 2-20%) vor und bei 8 Patienten (20,52%) war bereits ein Karzinom (G3-Stadium; Ki-67 >20%) vorhanden. Bei einem Patienten lagen keine Angaben zum Grading vor.

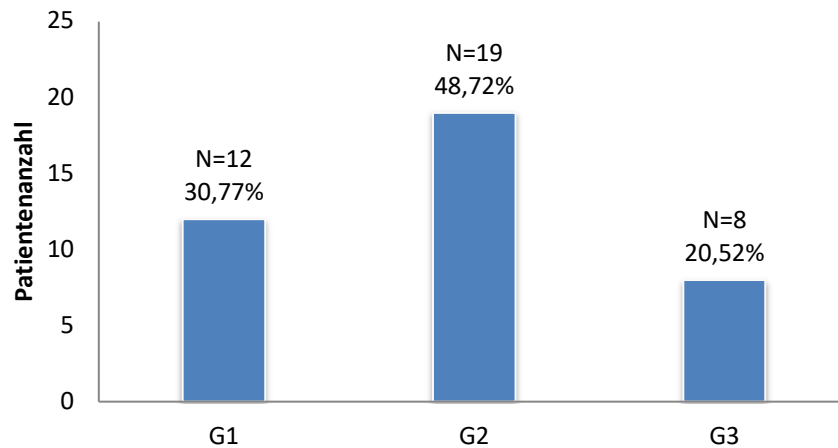


Abbildung 11: Grading der untersuchten gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Neoplasien (N=39 Tumore mit bekanntem Grading)

5.3 Immunhistochemie

5.3.1 Ki-67-Index

Bei 24,79% (N=30) aller Tumorproben lag ein Ki-67-Index unter 2% vor (G1 Stadium), 52,07% (N=63) hatten einen Ki-67-Index von 2 bis 20% (G2 Stadium), bei 13,22% (N=16) der Proben lag der Proliferationsindex zwischen 21 und 49% (G3a Stadium) und ein Proliferationsindex von größer gleich 50% (G3b Stadium) lag bei 9,92% (N=12) der Präparate vor (Abbildung 12). Bei 5 Tumorproben fehlten Angaben zum Proliferationsindex.

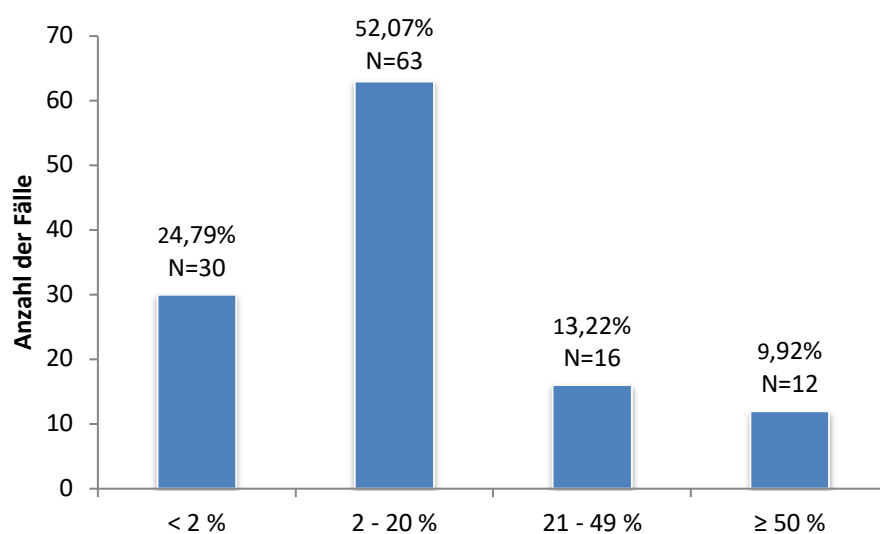


Abbildung 12: Vergleich des Ki-67-Indexes der untersuchten Gewebeproben der gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Neoplasien (N=126 Tumorproben)

5.3.2 Häufigkeitsverteilung der Somatostatinrezeptor-Subtypen

Die Häufigkeitsverteilung der verschiedenen SSTR-Subtypen ist in den Abbildungen 13 und 14 dargestellt. Als positiv hinsichtlich einer SSTR-Subtyp-Expression galten alle Tumore, die im IRS-Score mit ≥ 3 bewertet wurden. Alle Tumorproben mit einem Score < 3 wurden als negativ definiert. Somit ist nach dem IRS der SSTR2A der am häufigsten vorkommende Subtyp in allen untersuchten GEP-NEN, gefolgt vom SSTR5, dem SSTR3, dem SSTR4 und dem SSTR1.

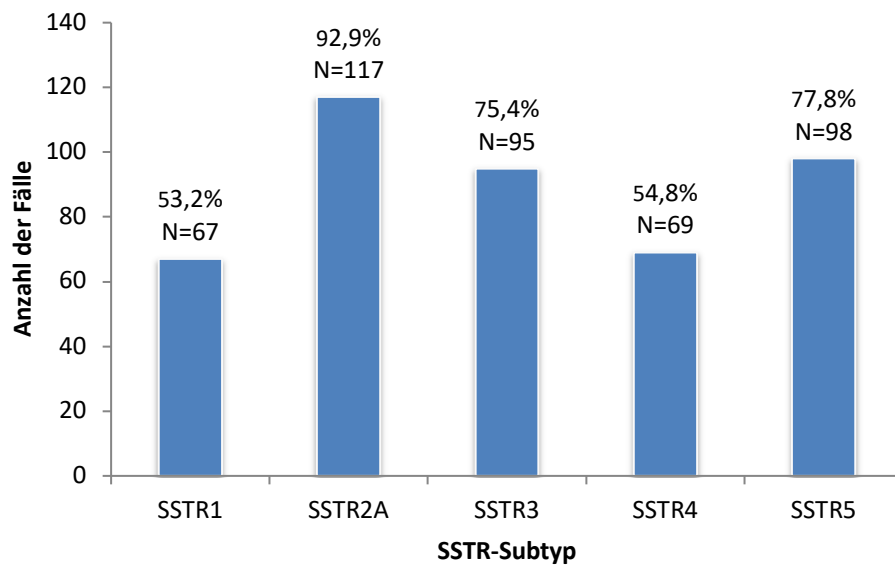


Abbildung 13: Häufigkeitsverteilung der Somatostatinrezeptor-Subtypen in allen Tumorproben gemeinsam betrachtet (N=126)

In den verschiedenen Primärtumorlokalisationen und in den Metastasen der entsprechenden Ursprungslokalisationen war die Häufigkeit der SSTR-Subtypen wie folgt:

Die Expressionshäufigkeit der Rezeptoren bei neuroendokrinen Neoplasien des Pankreas und deren Metastasen entsprach der folgenden Reihenfolge: SSTR2A > SSTR5 > SSTR3 = SSTR4 > SSTR1, wobei der SSTR3 und der SSTR4 gleich häufig exprimiert waren. Im Duodenum-Ileum überwog ebenfalls die Expression des SSTR2A, gefolgt vom SSTR5, dem SSTR3, dem SSTR1 und dem SSTR4. In den Präparaten des Kolons und Rektums dominierte ebenso der SSTR2A, gefolgt vom SSTR3, dem SSTR5, dem SSTR4 und schließlich dem SSTR1.

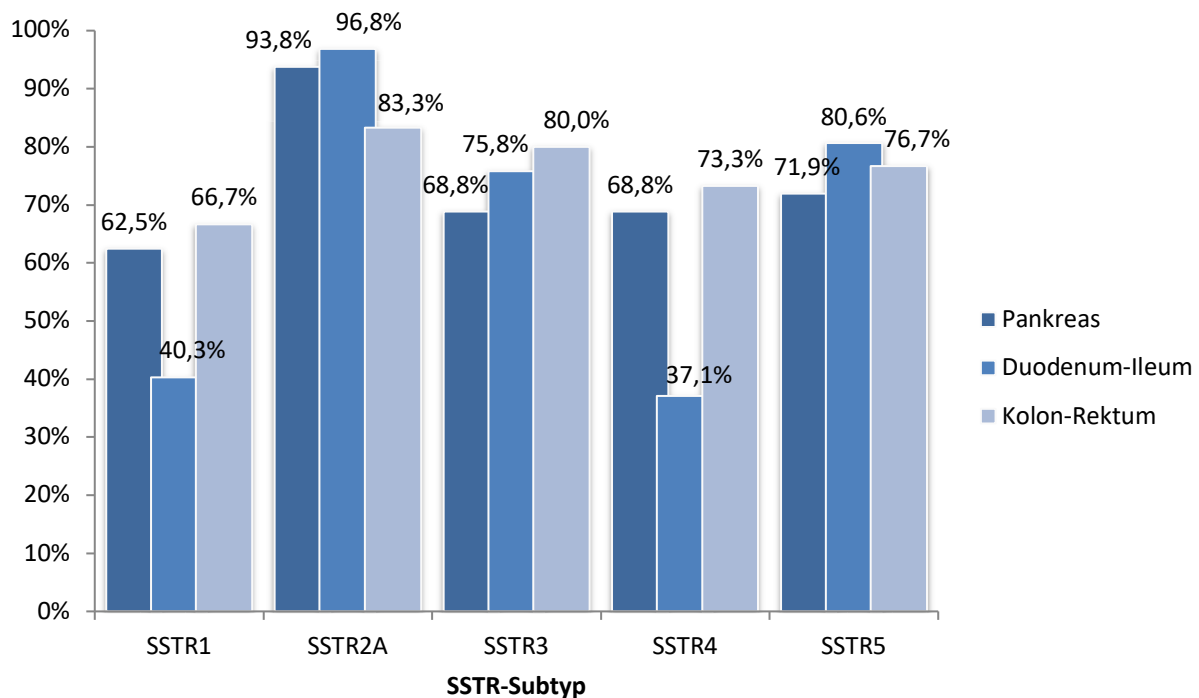


Abbildung 14: Häufigkeitsverteilung der Somatostatinrezeptor-Subtypen, aufgegliedert nach der Primärtumorlokalisation

5.3.3 Lichtmikroskopische Auswertung

Alle 126 Tumorpräparate wurden hinsichtlich der immunhistochemischen Expression der SSTR-Subtypen 1-5, des Chemokinrezeptors CXCR4 und des Proliferationsmarkers Ki-67 immunhistochemisch untersucht.

Dabei fanden sich in der lichtmikroskopischen Auswertung sowohl membranständige, zytoplasmatische als auch Kernfärbungen. Eine membranständige Färbung ergab sich nur beim SSTR2A; alle anderen SSTR-Subtypen zeigten sowohl eine membranständige als auch eine homogene zytoplasmatische Färbung. Der Ki-67 wies dagegen eine Kernfärbung auf. Bei der Auswertung der Tumorpräparate fiel eine große inter- aber auch intraindividuelle Heterogenität in der Anfärbung der Tumore auf.

Die Abbildung 15 stellt beispielhaft die immunhistochemischen Färbungen der SSTR1-5- und der CXCR4-Expression von gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Neoplasien dar.

Eine Gegenüberstellung der immunhistochemischen Färbungen der CXCR4-Expression von einem neuroendokrinen Primärtumor des Kolons (G3) und der dazugehörigen

Lymphknotenmetastase (G3) ist in Abbildung 16 dargestellt. Dabei zeigten beide Präparate eine starke CXCR4-Expression.

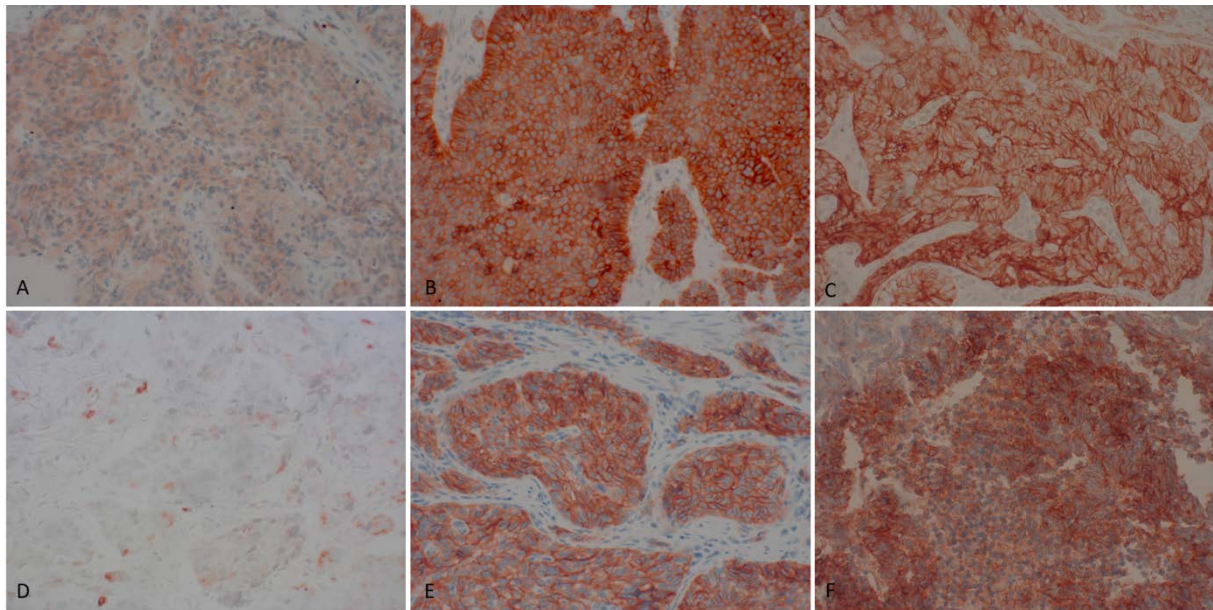


Abbildung 15: Immunhistochemische Färbungen der SSTR1-5- und CXCR4-Expression (rotbraune Färbungen) von gastroenteropankreatischer neuroendokriner Neoplasien, 400-fache Vergrößerung; A: SSTR1-Färbung, B: SSTR2A-Färbung, C: SSTR3-Färbung, D: SSTR4-Färbung, E: SSTR5-Färbung, F: CXCR4-Färbung

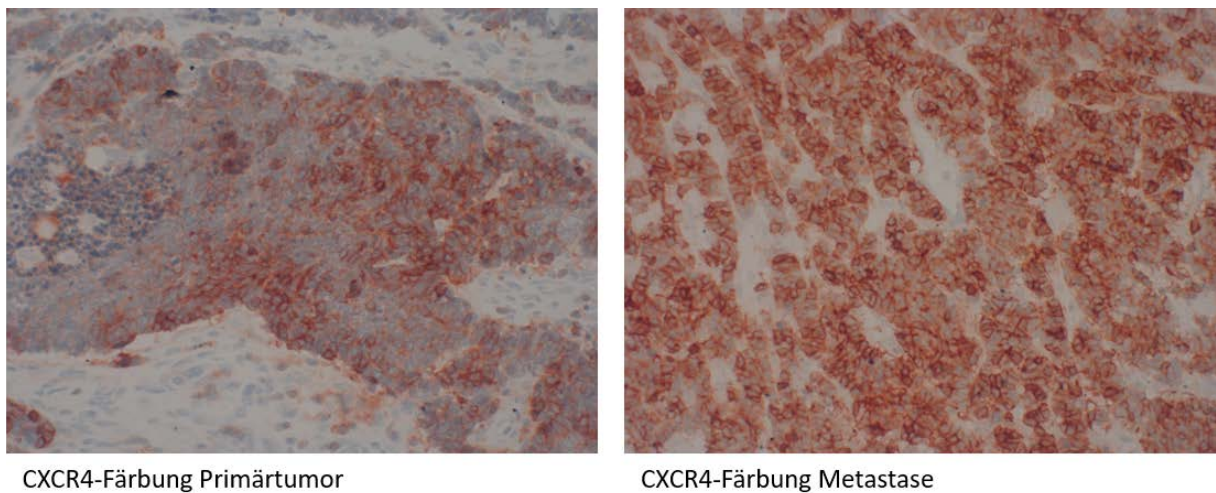


Abbildung 16: Gegenüberstellung einer immunhistochemischen Färbung der CXCR4-Expression von einem neuroendokrinen Tumor des Kolons (G3) und der dazugehörigen Lymphknotenmetastase (G3), 400-fache Vergrößerung

Auch Abbildung 17 veranschaulicht eine Gegenüberstellung der Expressionslevel des SSTR1-, des SSTR2A-, des SSTR3-, des SSTR5-, des CXCR4-Expression und des Proliferationsmarker Ki-

67 in zwei verschiedenen GEP-NEN-Präparaten. Dabei ist zu ersehen, dass bei dem Präparat Nr. E3054/12 eine starke SSTR2A-Expression (IRS 9) und ein niedriger Proliferationsindex (Ki-67: 3%) vorliegt. Im Vergleich dazu ist bei dem Präparat Nr. E708/13 eine stärkerer CXCR4-Expression (IRS 12) und ein hoher Proliferationsindex (Ki-67: 80%) zu erkennen.

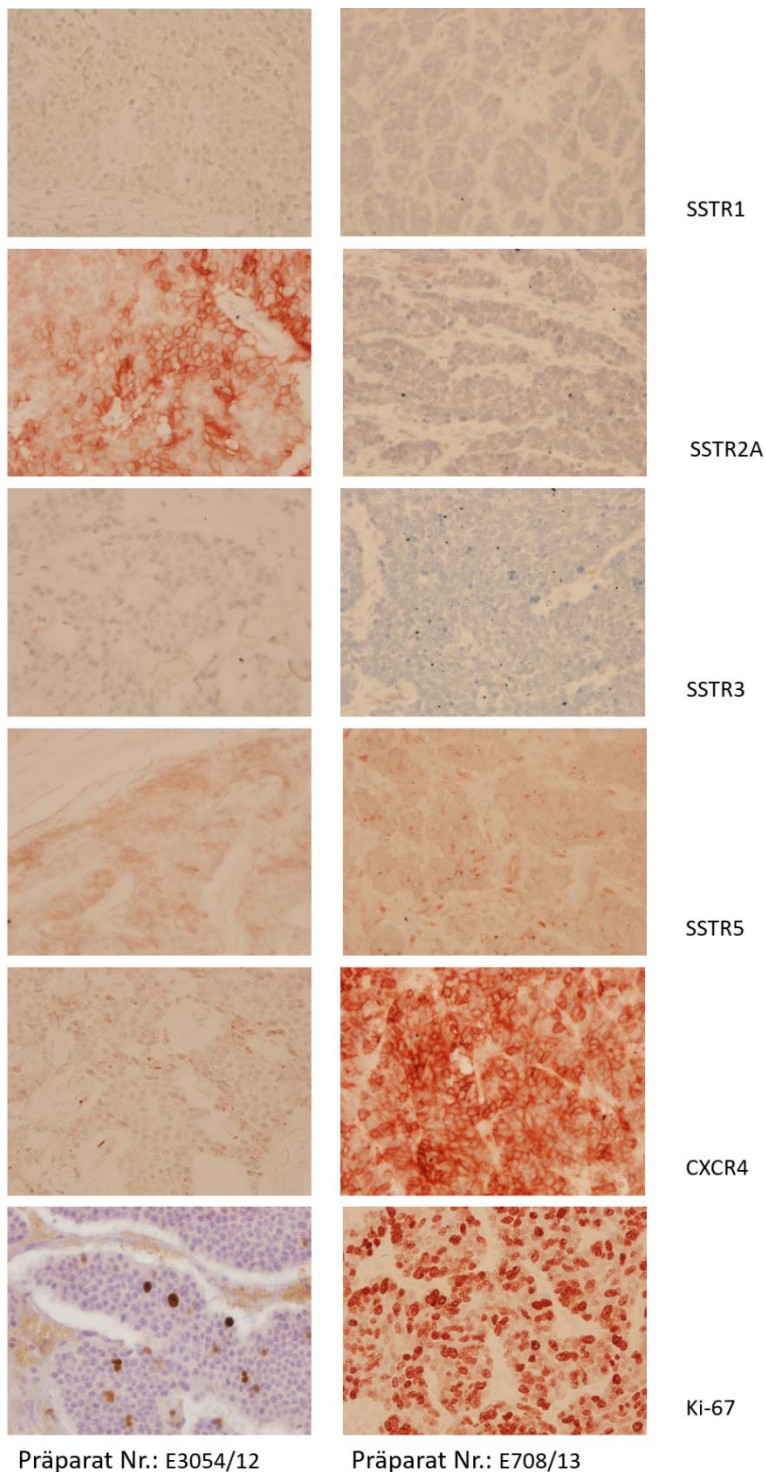


Abbildung 17: Gegenüberstellung des Expressionslevels der untersuchten Rezeptoren und des Ki-67 in 2 verschiedenen Präparaten von gastroenteropankreatischer neuroendokrinen Neoplasien

5.3.3.1 Ausmaß der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in allen Primärtumoren und in allen Metastasen aller Lokalisationen

Die Tabelle 13 zeigt die Unterschiede zwischen den verschiedenen Primärtumoren (PT) und den Metastasen (MTS) bezüglich der Expressionsintensität der SSTR1-5, des CXCR4 und der Höhe des Ki-67-Indexes. Es konnten hierbei keine signifikanten Unterschiede zwischen den Primärtumoren und den Metastasen verzeichnet werden.

Tabelle 13: Ausmaß der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in allen Proben zusammengefasst

	Primärtumore	Metastasen	p-Wert
SSTR1-Expression (IRS)	N=50	N=76	0,854
Mittelwert \pm SD	3,06 \pm 2,01	3,16 \pm 2,08	
Median	3	3	
Minimum	0	0	
Maximum	9	8	
SSTR2A-Expression (IRS)	N=50	N=76	0,988
Mittelwert \pm SD	8,50 \pm 3,55	8,41 \pm 3,46	
Median	8	9	
Minimum	1	0	
Maximum	12	12	
SSTR3-Expression (IRS)	N=50	N=76	0,200
Mittelwert \pm SD	3,98 \pm 2,26	4,47 \pm 2,05	
Median	4	4	
Minimum	0	0	
Maximum	9	9	
SSTR4-Expression (IRS)	N=50	N=76	0,657
Mittelwert \pm SD	3,82 \pm 3,02	3,58 \pm 2,93	
Median	3	3	
Minimum	0	0	
Maximum	12	12	
SSTR5-Expression (IRS)	N=50	N=76	0,252
Mittelwert \pm SD	4,40 \pm 2,73	4,92 \pm 2,43	
Median	4	4	
Minimum	0	0	
Maximum	12	12	
CXCR4-Expression (IRS)	N=50	N=76	0,669
Mittelwert \pm SD	3,70 \pm 3,07	3,62 \pm 2,59	
Median	2,50	3,50	
Minimum	0	0	
Maximum	12	12	

Ki-67-Index	N=49	N=72	0,538
Mittelwert \pm SD	13,47 \pm 19,59	14,24 \pm 20,10	
Median	5	5	
Minimum	1	1	
Maximum	80	80	

5.3.3.2 Ausmaß der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in Primärtumoren des Pankreas und in den entsprechenden Metastasen

In Tabelle 14 sind die Ergebnisse der Analyse des Ausmaßes der Expression der SSTR1-5 und des CXCR4 sowie die Höhe des Ki-67-Indexes in pankreatischen neuroendokrinen Neoplasien im Vergleich zu den entsprechenden Metastasen zusammengefasst. Hierbei konnte eine nicht signifikante, jedoch starke Tendenz zu einem Unterschied in der *SSTR1*- ($p=0,065$) und *SSTR3*-Expression ($p=0,088$) zwischen den Primärtumoren und den Metastasen, mit höheren Werten bei den Metastasen, festgestellt werden.

Weiterhin war ein signifikanter Unterschied zwischen den Primärtumoren und den Metastasen für die *SSTR5*-Expression nachweisbar ($p=0,036$). Auch hier lagen die Werte der Metastasen über denen der Primärtumore.

Für die Expressionsintensität aller übrigen Rezeptoren sowie für den Ki-67-Index waren keine statistisch signifikanten Unterschiede zu detektieren.

Tabelle 14: Ausmaß der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in Primärtumoren des Pankreas und in den entsprechenden Metastasen. *:p≤0,05 (Mann-Whitney-Test)

	Pankreas Primärtumore N=15	Pankreas Metastasen N=17	p-Wert
SSTR1-Expression (IRS)			0,065
Mittelwert ± SD	2,73 ± 2,01	4,06 ± 2,22	
Median	2	4	
Minimum	0	0	
Maximum	6	8	
SSTR2A-Expression (IRS)			0,250
Mittelwert ± SD	8,47 ± 3,29	9,53 ± 3,28	
Median	8	12	
Minimum	1	2	
Maximum	12	12	
SSTR3-Expression (IRS)			0,088
Mittelwert ± SD	2,93 ± 2,21	4,59 ± 2,42	
Median	4	4	
Minimum	0	1	
Maximum	6	9	
SSTR4-Expression (IRS)			0,321
Mittelwert ± SD	3,87 ± 3,24	4,76 ± 3,21	
Median	3	4	
Minimum	0	0	
Maximum	12	12	
SSTR5-Expression (IRS)			0,036*
Mittelwert ± SD	3,60 ± 2,50	5,29 ± 1,89	
Median	2	6	
Minimum	0	2	
Maximum	9	9	
CXCR4-Expression (IRS)			0,540
Mittelwert ± SD	4,67 ± 3,71	3,65 ± 3,04	
Median	4	4	
Minimum	0	0	
Maximum	12	12	
Ki-67-Index			0,795
Mittelwert ± SD	14,36 ± 21,13	16,06 ± 20,81	
Median	5	5	
Minimum	1	1	
Maximum	80	80	

5.3.3.3 Ausmaß der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in Primärtumoren des Duodenums und Ileums und in den entsprechenden Metastasen

Die Ergebnisse der Analyse des Ausmaßes der Expression der SSTR1-5, des CXCR4 und des Ki-67-Indexes in neuroendokrinen Neoplasien des Duodenums und Ileums im Vergleich zu den entsprechenden Metastasen zeigt die Tabelle 15.

Hierbei konnte ein deutlicher, jedoch grenzwertig nicht signifikanter ($p=0,054$) Unterschied in der *SSTR2A*-Expression zwischen den Primärtumoren und den Metastasen verzeichnet werden, mit niedrigeren Werten bei den Metastasen. Eine ähnliche Tendenz ($p=0,083$) zeigte sich auch für den *SSTR1*.

Tabelle 15: Ausmaß der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in Primärtumoren des Duodenums und Ileums und in den entsprechenden Metastasen

	Duodenum / Ileum Primärtumor N=21	Duodenum / Ileum Metastasen N=37-41	p-Wert
SSTR1-Expression (IRS)		N=41	0,083
Mittelwert \pm SD	3,05 \pm 1,59	2,39 \pm 1,71	
Median	4	2	
Minimum	0	0	
Maximum	6	8	
SSTR2A-Expression (IRS)		N=41	0,054
Mittelwert \pm SD	10,24 \pm 2,48	8,49 \pm 3,26	
Median	12	9	
Minimum	4	0	
Maximum	12	12	
SSTR3-Expression (IRS)		N=41	0,671
Mittelwert \pm SD	4,52 \pm 1,94	4,24 \pm 1,99	
Median	4	4	
Minimum	2	0	
Maximum	8	8	
SSTR4-Expression (IRS)		N=41	0,358
Mittelwert \pm SD	3,19 \pm 3,06	2,27 \pm 1,93	
Median	2	2	
Minimum	0	0	
Maximum	12	8	

SSTR5-Expression (IRS)		N=41	0,373
Mittelwert ± SD	5,00 ± 2,86	4,46 ± 2,48	
Median	4	4	
Minimum	0	0	
Maximum	12	12	
CXCR4-Expression (IRS)		N=41	0,696
Mittelwert ± SD	3,24 ± 2,14	3,24 ± 1,65	
Median	2	3	
Minimum	0	0	
Maximum	8	6	
Ki-67-Index		N=37	0,179
Mittelwert ± SD	5,43 ± 10,77	6,43 ± 10,45	
Median	2	3	
Minimum	1	1	
Maximum	50	59	

5.3.3.4 Ausmaß der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in Primärtumoren des Kolons und Rektums und in den entsprechenden Metastasen

Tabelle 16 zeigt die Ergebnisse der Auswertung der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in Primärtumoren von neuroendokrinen Neoplasien des Kolons und Rektums und in den entsprechenden Metastasen. Insgesamt waren keine statistisch nachweisbaren Unterschiede zwischen den Primärtumoren und den Metastasen nachweisbar.

Tabelle 16: Ausmaß der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in Primärtumoren des Kolons und Rektums und in den entsprechenden Metastasen

	Kolon / Rektum Primärtumor N = 14	Kolon / Rektum Metastasen N = 16	p-Wert
SSTR1-Expression (IRS)			0,479
Mittelwert ± SD	3,43 ± 2,59	3,81 ± 2,01	
Median	3,5	4	
Minimum	0	0	
Maximum	9	8	
SSTR2A-Expression (IRS)			0,462
Mittelwert ± SD	5,93 ± 3,81	6,75 ± 3,85	
Median	6	6	
Minimum	1	1	
Maximum	12	12	

SSTR3-Expression (IRS)			0,361
Mittelwert ± SD	4,29 ± 2,52	4,88 ± 1,92	
Median	4	6	
Minimum	1	2	
Maximum	9	9	
SSTR4-Expression (IRS)			0,704
Mittelwert ± SD	4,71 ± 2,70	5,13 ± 2,89	
Median	5	5	
Minimum	0	1	
Maximum	9	9	
SSTR5-Expression (IRS)			0,318
Mittelwert ± SD	4,36 ± 2,73	5,44 ± 2,78	
Median	4	5	
Minimum	0	2	
Maximum	9	12	
CXCR4-Expression (IRS)			0,498
Mittelwert ± SD	3,36 ± 3,47	4,06 ± 3,69	
Median	2	3	
Minimum	0	0	
Maximum	12	12	
Ki-67-Index			0,786
Mittelwert ± SD	24,64 ± 23,51	28,06 ± 27,91	
Median	21,5	22,5	
Minimum	1	1	
Maximum	80	80	

5.3.3.5 Ausmaß der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in den verschiedenen Primärtumorlokalisationen und in den zugehörigen Metastasen zusammengekommen

Tabelle 17 und 18 demonstrieren die SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression der verschiedenen Primärtumorlokalisationen und der dazugehörigen Metastasen zusammengekommen.

Tabelle 17: SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression der verschiedenen Primärtumorlokalisationen und deren Metastasen zusammengefasst. PT: Primärtumore, MTS: Metastasen

	Pankreas PT+MTS	Duodenum / Ileum PT+MTS	Kolon / Rektum PT+MTS
SSTR1-Expression (IRS)			
Mittelwert \pm SD	3,44 \pm 2,20	2,61 \pm 1,69	3,63 \pm 2,27
Median	3,50	2	4
Minimum	0	0	0
Maximum	8	8	9
SSTR2A-Expression (IRS)			
Mittelwert \pm SD	9,03 \pm 3,28	9,08 \pm 3,12	6,37 \pm 3,79
Median	9	9	6
Minimum	1	0	1
Maximum	12	12	12
SSTR3-Expression (IRS)			
Mittelwert \pm SD	3,81 \pm 2,44	4,34 \pm 1,97	4,60 \pm 2,21
Median	4	4	4
Minimum	0	0	1
Maximum	9	8	9
SSTR4-Expression (IRS)			
Mittelwert \pm SD	4,34 \pm 3,21	2,58 \pm 2,39	4,93 \pm 2,77
Median	4	2	5
Minimum	0	0	0
Maximum	12	12	9
SSTR5-Expression (IRS)			
Mittelwert \pm SD	4,50 \pm 2,33	4,65 \pm 2,61	4,93 \pm 2,77
Median	4	4	4
Minimum	0	0	0
Maximum	9	12	12
CXCR4-Expression (IRS)			
Mittelwert \pm SD	4,13 \pm 3,36	3,24 \pm 1,82	3,73 \pm 3,55
Median	4	2,50	2
Minimum	0	0	0
Maximum	12	8	12
Ki-67-Index			
Mittelwert \pm SD	15,29 \pm 20,63	6,07 \pm 10,49	26,47 \pm 25,57
Median	5	2,50	21,50
Minimum	1	1	1
Maximum	80	59	80

Zwischen den Primärtumoren und den dazugehörigen Metastasen des Duodenum-Ileums im Vergleich zu denen des Kolon-Rektums fand sich ein signifikanter Unterschied in der *SSTR1*- ($p=0,025$), *SSTR2A*- ($p=0,001$), *SSTR4*- ($p<0,001$) und *Ki-67*- ($p<0,001$) Expression. Hierbei zeigten sich beim *SSTR1*, beim *SSTR4* und beim *Ki-67* zum Teil deutlich höhere und beim *SSTR2A* deutlich niedrigere IRS-Werte bei den Primärtumoren und Metastasen des Kolon-Rektums im Vergleich zum Duodenum/Ileum.

Beim Vergleich zwischen den Primärtumoren und Metastasen des Pankreas und denen des Kolon-Rektums zeigte sich ebenfalls ein Unterschied. Hier war die *SSTR2A*-Expression in den NEN des Pankreas signifikant ($p=0,006$) höher als in den Tumoren des Kolon-Rektums.

Auch zwischen den Primärtumoren und Metastasen des Pankreas und denen des Duodenum-Ileums konnte ein signifikanter Unterschied in der *SSTR4*- ($p=0,006$) und *Ki-67*- ($p=0,004$) Expression aufgezeigt werden. Hier lagen die IRS-Werte in den aus dem Pankreas stammenden Tumoren höher als in denen aus dem Duodenum-Ileum.

Tabelle 18: Vergleich der *SSTR1-5*-, *CXCR4*- und *Ki-67*-Expression in den Primärtumoren und in den zugehörigen Metastasen zusammengefasst (PT+MTS) zwischen den verschiedenen Primärtumorkategorien. PT: Primärtumore, MTS: Metastasen, *: $p\leq 0,05$ (Mann-Whitney-Test)

	Pankreas (PT+MTS) vs. Duodenum / Ileum (PT+MTS)	Pankreas (PT+MTS) vs. Kolon / Rektum (PT+MTS)	Duodenum / Ileum (PT+MTS) vs. Kolon / Rektum (PT+MTS)
SSTR1-Expression (IRS)			
p-Wert	0,068	0,813	0,025*
SSTR2A-Expression (IRS)			
p-Wert	0,980	0,006*	0,001*
SSTR3-Expression (IRS)			
p-Wert	0,224	0,224	0,760
SSTR4-Expression (IRS)			
p-Wert	0,006*	0,326	<0,001*
SSTR5-Expression (IRS)			
p-Wert	0,977	0,634	0,589
CXCR4-Expression (IRS)			
p-Wert	0,404	0,395	0,679
Ki-67-Index			
p-Wert	0,004*	0,158	<0,001*

5.3.3.6 Vergleich der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression zwischen den verschiedenen Primärtumorlokalisationen

Aus Tabelle 19 ist die Expression der SSTR1-5, des CXCR4 und des Ki-67, aufgegliedert nach den verschiedenen Primärtumorlokalisationen (Pankreas, Duodenum-Ileum und Kolon-Rektum), zu sehen. Tabelle 20 zeigt die Ergebnisse der statistischen Analyse in Bezug auf Unterschiede in der Rezeptorexpression zwischen den Primärtumoren der verschiedenen Lokalisationen.

Tabelle 19: SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in den Primärtumoren, aufgegliedert nach den verschiedenen Lokalisationen

	Pankreas Primärtumor N = 15	Duodenum / Ileum Primärtumor N = 21	Kolon / Rektum Primärtumor N = 14
SSTR1-Expression (IRS)			
Mittelwert ± SD	2,73 ± 2,01	3,05 ± 1,59	3,43 ± 2,59
Median	2	4	3,5
Minimum	0	0	0
Maximum	6	6	9
SSTR2A-Expression (IRS)			
Mittelwert ± SD	8,47 ± 3,29	10,24 ± 2,48	5,93 ± 3,81
Median	8	12	6
Minimum	1	4	1
Maximum	12	12	12
SSTR3-Expression (IRS)			
Mittelwert ± SD	2,93 ± 2,21	4,52 ± 1,94	4,29 ± 2,52
Median	4	4	4
Minimum	0	2	1
Maximum	6	8	9
SSTR4-Expression (IRS)			
Mittelwert ± SD	3,87 ± 3,24	3,19 ± 3,06	4,71 ± 2,70
Median	3	2	5
Minimum	0	0	0
Maximum	12	12	9
SSTR5-Expression (IRS)			
Mittelwert ± SD	3,60 ± 2,50	5,00 ± 2,86	4,36 ± 2,73
Median	2	4	4
Minimum	0	0	0
Maximum	9	12	9

CXCR4-Expression (IRS)			
Mittelwert \pm SD	4,67 \pm 3,71	3,24 \pm 2,14	3,36 \pm 3,47
Median	4	2	2
Minimum	0	0	0
Maximum	12	8	12
Ki-67-Index			
Mittelwert \pm SD	14,36 \pm 21,13	5,43 \pm 10,77	24,64 \pm 23,51
Median	5	2	21,5
Minimum	1	1	1
Maximum	80	50	80

Hierbei zeigte sich ein hochsignifikanter Unterschied in der *SSTR2A*-Expression zwischen den Primärtumoren des Duodenum-Ileums und des Kolon-Rektums ($p < 0,001$). Eine Tendenz zu einem Unterschied zeigte sich auch zwischen den Primärtumoren des Pankreas und denen des Duodenum-Ileums ($p = 0,093$) sowie zwischen den Primärtumoren des Pankreas und denen des Kolon-Rektums ($p = 0,075$). Insgesamt war die *SSTR2A*-Expression in den NEN des Duodenum-Ileums am höchsten, gefolgt von denen des Pankreas und am niedrigsten in den Tumoren aus dem Kolon-Rektum (Tabelle 19).

Ein signifikanter Unterschied war auch in der *SSTR3*-Expression zwischen den Primärtumoren des Pankreas und den NEN des Duodenum-Ileums zu verzeichnen ($p = 0,044$). Hier lag die *SSTR3*-Expression (ähnlich wie beim *SSTR2A*) in den Tumoren Duodenum-Ileums deutlich über den Werten der NEN des Pankreas.

In Bezug auf die *Ki-67*-Expression zeigte sich sowohl zwischen den Primärtumoren des Pankreas und denen des Duodenum-Ileums als auch zwischen den Primärtumoren des Duodenum-Ileums und denen des Kolon-Rektums ein signifikanter Unterschied. Anders als bei der *SSTR2A*- und *SSTR3*-Expression fanden sich hier die höchsten Werte bei den Primärtumoren des Kolon-Rektums, gefolgt von denen des Pankreas und schließlich denen des Duodenum-Ileums (Tabelle 19 und 20).

Tabelle 20: Vergleich der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression zwischen den verschiedenen Primärtumorlokalisationen (PT). *: $p \leq 0,05$ (Mann-Whitney-Test)

	PT Pankreas vs. PT Duodenum / Ileum	PT Pankreas vs. PT Kolon / Rektum	PT Duodenum / Ileum vs. PT Kolon / Rektum
SSTR1-Expression (IRS)			
p-Wert	0,468	0,413	0,902
SSTR2A-Expression (IRS)			
p-Wert	0,093	0,075	$<0,001^*$
SSTR3-Expression (IRS)			
p-Wert	$0,044^*$	0,221	0,581
SSTR4-Expression (IRS)			
p-Wert	0,475	0,309	0,076
SSTR5-Expression (IRS)			
p-Wert	0,145	0,436	0,504
CXCR4-Expression (IRS)			
p-Wert	0,296	0,199	0,592
Ki-67-Index			
p-Wert	$0,023^*$	0,249	$0,006^*$

5.3.3.7 Vergleich der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression zwischen den Metastasen der verschiedenen Primärtumorlokalisationen

In Tabelle 21 sind die Ergebnisse der immunhistochemischen Analyse der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in den untersuchten Metastasen, aufgegliedert nach der Primärtumorlokalisation, dargestellt.

Tabelle 21: SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in den Metastasen (MTS) der verschiedenen Primärtumorlokalisationen

	Pankreas MTS N = 17	Duodenum / Ileum MTS N = 37-41	Kolon / Rektum MTS N = 16
SSTR1-Expression (IRS)		N=41	
Mittelwert \pm SD	$4,06 \pm 2,22$	$2,39 \pm 1,71$	$3,81 \pm 2,00$
Median	4	2	4
Minimum	0	0	0
Maximum	8	8	8

SSTR2A-Expression (IRS)		N=41	
Mittelwert \pm SD	9,53 \pm 3,28	8,49 \pm 3,26	6,75 \pm 3,85
Median	12	9	6
Minimum	2	0	1
Maximum	12	12	12
SSTR3-Expression (IRS)		N=41	
Mittelwert \pm SD	4,59 \pm 2,42	4,24 \pm 1,99	4,88 \pm 1,92
Median	4	4	6
Minimum	1	0	2
Maximum	9	8	9
SSTR4-Expression (IRS)		N=41	
Mittelwert \pm SD	4,76 \pm 3,21	2,27 \pm 1,93	5,13 \pm 2,89
Median	4	2	5
Minimum	0	0	1
Maximum	12	8	9
SSTR5-Expression (IRS)		N=41	
Mittelwert \pm SD	5,29 \pm 1,89	4,46 \pm 2,48	5,44 \pm 2,78
Median	6	4	5
Minimum	2	0	2
Maximum	9	12	12
CXCR4-Expression (IRS)		N=41	
Mittelwert \pm SD	3,65 \pm 3,04	3,24 \pm 1,65	4,06 \pm 3,69
Median	4	3	3
Minimum	0	0	0
Maximum	12	6	12
Ki-67-Index		N=37	
Mittelwert \pm SD	16,06 \pm 20,81	6,43 \pm 10,45	28,06 \pm 27,91
Median	5	3	22,5
Minimum	1	1	1
Maximum	80	59	80

Tabelle 22 veranschaulicht die statistischen Unterschiede in Bezug auf die Untersuchungsparameter zwischen den Metastasen der verschieden lokalisierten Primärtumore.

Tabelle 22: Vergleich der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression zwischen den Metastasen (MTS) der verschiedenen lokalisierten Primärtumore. *: $p \leq 0,05$ (Mann-Whitney-Test)

	MTS Pankreas vs. MTS Duodenum / Ileum	MTS Pankreas vs. MTS Kolon / Rektum	MTS Duodenum / Ileum vs. MTS Kolon / Rektum
SSTR1-Expression (IRS)			
p-Wert	0,004*	0,602	0,008*
SSTR2A-Expression (IRS)			
p-Wert	0,205	0,044*	0,106
SSTR3-Expression (IRS)			
p-Wert	0,805	0,591	0,338
SSTR4-Expression (IRS)			
p-Wert	0,003*	0,675	<0,001*
SSTR5-Expression (IRS)			
p-Wert	0,086	0,941	0,186
CXCR4-Expression (IRS)			
p-Wert	0,845	1,000	0,904
Ki-67-Index			
p-Wert	0,051	0,375	0,014*

Signifikante Unterschiede zeigten sich für die *SSTR1*-Expression zwischen den Metastasen von Primärtumoren des Pankreas und denen des Duodenums-Ileums ($p=0,004$) sowie zwischen den Metastasen von Primärtumoren des Duodenum-Ileums und denen des Kolon-Rektums ($p=0,008$). Hierbei war die *SSTR1*-Expression in den Metastasen von Primärtumoren des Pankreas am höchsten, gefolgt von denen des Kolon-Rektums und schließlich des Duodenum-Ileums (siehe Tabelle 21 und 22).

In Bezug auf die *SSTR2A*-Expression konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Metastasen von Primärtumoren des Pankreas und denen des Kolon-Rektums ($p=0,044$) verzeichnet werden, mit höheren Werten bei den Metastasen von Primärtumoren des Pankreas (siehe Tabelle 21 und 22).

Ein signifikanter Unterschied zeigte sich auch hinsichtlich der *SSTR4*-Expression bei den Metastasen von Primärtumoren des Pankreas und denen des Duodenum-Ileums ($p=0,003$) sowie zwischen den Metastasen von Primärtumoren des Duodenum-Ileums und denen des Kolon-Rektums ($p<0,001$). Hier waren die Werte der Metastasen von Primärtumoren des Kolon-Rektums und auch des Pankreas deutlich höher als die der Metastasen von Primärtumoren des Duodenum-Ileums (siehe Tabelle 21 und 22).

Auch beim *SSTR5* fanden sich tendenziell höhere Werte bei den Metastasen von Primärtumoren des Kolon-Rektums und von den Primärtumoren des Pankreas im Vergleich zu denen des Duodenum-Ileums (siehe Tabelle 21 und 22).

Beim *Ki-67*-Index lagen schließlich die Werte bei den Metastasen von Primärtumoren des Kolon-Rektums, aber auch des Pankreas signifikant über den Werten der Metastasen der Primärtumore des Duodenum-Ileums (siehe Tabelle 21 und 22).

5.3.3.8 *SSTR1-5*-, *CXCR4*- und *Ki-67*-Expression in Primärtumoren und Metastasen in Abhängigkeit vom Grading

Tabelle 23 zeigt die Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchung der *SSTR1-5*-, *CXCR4*- und *Ki-67*-Expression von allen Primärtumoren und Metastasen zusammengenommen, aufgegliedert nach dem jeweiligen Grading (G1-G3, G3a, G3b).

Tabelle 23: *SSTR1-5*-, *CXCR4*- und *Ki-67*-Expression in Primärtumoren und Metastasen zusammengenommen, aufgegliedert nach dem jeweiligen Grading

	G1 N=30	G2 N=63	G3 N=28	G3a N=16	G3b N=12
<i>SSTR1</i>-Expression (IRS)					
Mittelwert ± SD	2,93 ± 1,76	3,02 ± 2,12	3,68 ± 2,05	4,25 ± 2,04	2,92 ± 1,88
Median	3	2	4	4	2
Minimum	0	0	0	1	0
Maximum	6	9	8	8	6
<i>SSTR2A</i>-Expression (IRS)					
Mittelwert ± SD	9,07 ± 3,10	9,43 ± 3,06	6,04 ± 3,54	6,38 ± 4,2	5,58 ± 2,42
Median	9	9	6	6	5
Minimum	1	1	1	1	2
Maximum	12	12	12	12	9
<i>SSTR3</i>-Expression (IRS)					
Mittelwert ± SD	4,00 ± 2,05	4,46 ± 2,21	4,43 ± 2,11	4,56 ± 2,33	4,25 ± 1,86
Median	4	4	4	4	4
Minimum	0	0	1	2	1
Maximum	9	9	9	9	6
<i>SSTR4</i>-Expression (IRS)					
Mittelwert ± SD	2,57 ± 1,69	3,52 ± 2,91	5,18 ± 3,26	4,94 ± 2,88	5,50 ± 3,82
Median	2	3	5	4	6
Minimum	0	0	0	1	0
Maximum	6	12	12	12	12

SSTR5-Expression (IRS)					
Mittelwert \pm SD	3,87 \pm 2,38	4,95 \pm 2,55	5,14 \pm 2,66	4,88 \pm 2,55	5,50 \pm 2,87
Median	4	4	5	6	4
Minimum	0	1	0	0	2
Maximum	9	12	12	9	12
CXCR4-Expression (IRS)					
Mittelwert \pm SD	2,70 \pm 2,23	3,24 \pm 2,53	5,57 \pm 3,20	4,88 \pm 2,75	6,50 \pm 3,63
Median	2	2	5	4	6
Minimum	0	0	2	2	2
Maximum	8	12	12	12	12
Ki-67-Index					
Mittelwert \pm SD	1,00 \pm 0	6,46 \pm 5,42	44,57 \pm 19,73	29,88 \pm 6,19	64,17 \pm 13,05
Median	1	5	38,5	30	60
Minimum	1	2	21	21	50
Maximum	1	20	80	40	80

In den Tabellen 24 und 25 sind die Ergebnisse der statistischen Vergleiche zwischen den Tumoren der verschiedenen Grading-Klassen an allen Tumorproben zusammengefasst.

Erwartungsgemäß konnten hochsignifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Grading-Klassen in der *Ki-67*-Expression nachgewiesen werden, mit steigenden Werten mit zunehmender Malignität der Tumore. Auch zwischen den Gruppen G3a und G3b konnte ein hochsignifikanter Unterschied in der *Ki-67*-Expression verzeichnet werden.

Zwischen G1- und G2-Tumoren war in der *SSTR1-5*- und *CXCR4*-Expression kein signifikanter Unterschied aufzuzeigen.

Hinsichtlich der *SSTR1*-Expression konnten signifikante Unterschiede zwischen den G1- und den G3a-Tumoren ($p=0,048$) sowie zwischen den G2- und den G3a-Tumoren ($p=0,033$) beobachtet werden.

In Bezug auf die *SSTR2A*-Expression zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen allen untersuchten Grading-Klassen: G1 und G3 ($p=0,002$), G1 und G3a ($p=0,041$), G1 und G3b ($p=0,002$), G2 und G3 ($p<0,001$), G2 und G3a ($p=0,007$), G2 und G3b ($p<0,001$). Hierbei fanden sich abnehmende Werte mit zunehmender Malignität.

Auch bei der *SSTR4*-Expression konnten signifikante Unterschiede zwischen den G1- und G3- ($p < 0,001$), G1- und G3a- ($p = 0,003$), G1- und G3b- ($p = 0,027$) und G2- und G3- ($p = 0,018$) Neoplasien verzeichnet werden. Allerdings zeigten sich hier zunehmende Werte mit steigender Malignität.

In der *CXCR4*-Expression konnten wir ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den G1- und G3- ($p < 0,001$), G1- und G3a ($p = 0,009$), G1- und G3b- ($p = 0,002$), G2- und G3- ($p < 0,001$), G2- und G3a- ($p = 0,011$), G2- und G3b- ($p = 0,002$) Neoplasien verzeichnen, mit steigenden Werten mit zunehmender Malignität.

Innerhalb der Grading-Gruppe 3 ließen sich keine signifikanten Unterschiede in der *SSTR1-5*- und in der *CXCR4*-Expression feststellen.

Tabelle 24: Vergleich der *SSTR1-5*-, *CXCR4*- und Ki-67-Expression zwischen den verschiedenen Grading-Klassen in allen Tumorproben zusammengefasst, Teil 1. *: $p \leq 0,05$ (Mann-Whitney-Test)

	G1 vs. G2	G1 vs. G3	G2 vs. G3	G3a vs. G3b
SSTR1-Expression (IRS)				
p-Wert	0,893	0,206	0,130	0,096
SSTR2A-Expression (IRS)				
p-Wert	0,477	0,002*	<0,001*	0,797
SSTR3-Expression (IRS)				
p-Wert	0,284	0,448	0,852	0,943
SSTR4-Expression (IRS)				
p-Wert	0,294	<0,001*	0,018*	0,796
SSTR5-Expression (IRS)				
p-Wert	0,069	0,065	0,634	0,758
CXCR4-Expression (IRS)				
p-Wert	0,397	<0,001*	<0,001*	0,256
Ki-67-Index				
p-Wert	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*

Tabelle 25: Vergleich der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression zwischen den verschiedenen Grading-Klassen in allen Tumorproben zusammengenommen, Teil 2. *: $p \leq 0,05$ (Mann-Whitney-Test)

	G1 vs. G3a	G1 vs. G3b	G2 vs. G3a	G2 vs. G3b
SSTR1-Expression (IRS)				
p-Wert	0,048*	0,898	0,033*	0,988
SSTR2A-Expression (IRS)				
p-Wert	0,041*	0,002*	0,007*	<0,001*
SSTR3-Expression (IRS)				
p-Wert	0,539	0,538	0,950	0,811
SSTR4-Expression (IRS)				
p-Wert	0,003*	0,027*	0,057	0,083
SSTR5-Expression (IRS)				
p-Wert	0,165	0,104	0,847	0,568
CXCR4-Expression (IRS)				
p-Wert	0,009*	0,002*	0,011*	0,002*
Ki-67-Index				
p-Wert	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*

5.3.3.9 SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in den Primärtumoren in Abhängigkeit vom Grading

In der Tabelle 26 sind die Ergebnisse der immunhistochemischen Analyse der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in allen Primärtumoren in Abhängigkeit vom Grading dargestellt.

Tabelle 26: SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in allen Primärtumoren zusammengenommen, aufgegliedert nach dem jeweiligen Grading

	G1 N=15	G2 N=23	G3 N=11	G3a N=6	G3b N=5
SSTR1-Expression (IRS)					
Mittelwert \pm SD	3 \pm 1,60	2,96 \pm 2,32	3,09 \pm 1,86	3,5 \pm 1,37	2,6 \pm 2,40
Median	4	2	3	3	2
Minimum	0	0	0	2	0
Maximum	6	9	6	6	6
SSTR2A-Expression (IRS)					
Mittelwert \pm SD	9,6 \pm 2,53	9,52 \pm 3,11	4,91 \pm 3,64	4,33 \pm 4,17	5,6 \pm 3,20
Median	8	12	4	3	4
Minimum	4	1	1	1	2
Maximum	12	12	12	12	9

SSTR3-Expression (IRS)					
Mittelwert ± SD	3,93 ± 1,75	4,17 ± 2,87	3,64 ± 1,56	3,5 ± 1,51	3,8 ± 1,78
Median	4	4	4	3,5	4
Minimum	1	0	1	2	1
Maximum	8	9	6	6	6
SSTR4-Expression (IRS)					
Mittelwert ± SD	2,4 ± 1,95	3,74 ± 2,80	5,18 ± 3,25	4,17 ± 2,13	6,4 ± 4,15
Median	2	4	6	4,5	6
Minimum	0	0	1	1	2
Maximum	6	8	12	6	12
SSTR5-Expression (IRS)					
Mittelwert ± SD	3,53 ± 2,44	4,87 ± 2,81	4,45 ± 2,97	4,17 ± 3,37	4,8 ± 2,77
Median	4	4	4	4	4
Minimum	0	1	0	0	2
Maximum	9	12	9	9	9
CXCR4-Expression (IRS)					
Mittelwert ± SD	2,93 ± 2,57	3,7 ± 3,31	4,82 ± 3,25	3,33 ± 1,63	6,6 ± 3,97
Median	2	2	4	3	6
Minimum	0	0	2	2	2
Maximum	8	12	12	6	12
Ki-67-Index					
Mittelwert ± SD	1 ± 0	7,04 ± 5,85	43,91 ± 20,51	28,67 ± 4,13	62,2 ± 16,25
Median	1	5	33	29	51
Minimum	1	2	23	23	50
Maximum	1	20	80	33	80

Die Ergebnisse der statistischen Vergleiche zwischen den verschiedenen Grading-Stufen an allen Primärtumoren zusammengefasst sind in der Tabelle 27 dargestellt.

Wie zu erwarten, zeigten sich auch hier hochsignifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Grading-Klassen in der *Ki-67*-Expression.

Für die Gruppe der gut-differenzierten (G1) Primärtumore im Vergleich zu den schlecht-differenzierten Neoplasien (G3) konnte ein signifikanter Unterschied in der *SSTR2A*- und in der *SSTR4*-Expression verzeichnet werden. Auch zwischen den G2- und G3-Tumoren zeigte sich ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der *SSTR2A*-Expression. Insgesamt nahm die *SSTR2A*-Expression mit steigender Malignität der Primärtumore in Abhängigkeit vom Grading ab, während die *SSTR4*-Expression zunahm.

In Bezug auf die SSTR1-, SSTR3-, SSTR5- und CXCR4-Expression konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Grading-Klassen gezeigt werden.

Tabelle 27: Vergleich der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression zwischen den verschiedenen Grading-Klassen in allen Primärtumoren zusammengefasst. *: $p \leq 0,05$ (Mann-Whitney-Test)

	G1 vs. G2	G1 vs. G3	G2 vs. G3	G3a vs. G3b
SSTR1-Expression (IRS)				
p-Wert	0,599	0,936	0,638	0,404
SSTR2A-Expression (IRS)				
p-Wert	0,833	0,005*	0,003*	0,357
SSTR3-Expression (IRS)				
p-Wert	0,843	0,763	0,625	0,630
SSTR4-Expression (IRS)				
p-Wert	0,159	0,019*	0,248	0,396
SSTR5-Expression (IRS)				
p-Wert	0,180	0,444	0,751	0,641
CXCR4-Expression (IRS)				
p-Wert	0,504	0,105	0,175	0,130
Ki-67-Index				
p-Wert	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,006*

5.3.3.10 SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in den Metastasen in Abhängigkeit vom Grading

In Tabelle 28 sind die Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchung der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in allen Metastasen zusammengefasst aufgeführt.

Tabelle 28: SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in allen Metastasen zusammengefasst, aufgliedert nach dem jeweiligen Grading

	G1 N=15	G2 N=40	G3 N=17	G3a N=10	G3b N=7
SSTR1-Expression (IRS)					
Mittelwert \pm SD	2,87 \pm 1,95	3,05 \pm 2,03	4,06 \pm 2,13	4,7 \pm 2,31	3,14 \pm 1,57
Median	3	3	4	4	2
Minimum	0	0	1	1	2
Maximum	6	8	8	8	6

SSTR2A-Expression (IRS)					
Mittelwert \pm SD	8,53 \pm 3,60	9,38 \pm 3,07	6,76 \pm 3,38	7,6 \pm 3,97	5,57 \pm 1,98
Median	9	9	6	8,5	6
Minimum	1	2	1	1	3
Maximum	12	12	12	12	8
SSTR3-Expression (IRS)					
Mittelwert \pm SD	4,07 \pm 2,37	4,63 \pm 1,75	4,94 \pm 2,30	5,2 \pm 2,57	4,57 \pm 1,98
Median	4	4	6	5	6
Minimum	0	2	1	2	1
Maximum	9	9	9	9	6
SSTR4-Expression (IRS)					
Mittelwert \pm SD	2,73 \pm 1,43	3,4 \pm 3,01	5,18 \pm 3,37	5,4 \pm 3,27	4,86 \pm 3,76
Median	2	2	4	4	6
Minimum	0	0	0	2	0
Maximum	6	12	12	12	9
SSTR5-Expression (IRS)					
Mittelwert \pm SD	4,20 \pm 2,36	5 \pm 2,42	5,59 \pm 2,42	5,3 \pm 2,01	6 \pm 3,05
Median	4	4	6	6	4
Minimum	1	2	2	2	4
Maximum	9	12	12	8	12
CXCR4-Expression (IRS)					
Mittelwert \pm SD	2,47 \pm 1,88	2,98 \pm 1,95	6,06 \pm 3,17	5,8 \pm 2,93	6,43 \pm 3,69
Median	2	2	6	6	6
Minimum	0	0	2	2	2
Maximum	6	9	12	12	12
Ki-67-Index					
Mittelwert \pm SD	1 \pm 0	6,13 \pm 5,21	45 \pm 19,83	30,6 \pm 7,27	65,57 \pm 11,42
Median	1	4,5	40	30	60
Minimum	1	2	21	21	50
Maximum	1	20	80	40	80

Tabelle 29 zeigt die Ergebnisse der statistischen Vergleiche zwischen den verschiedenen Grading-Klassen an allen Metastasen zusammengenommen.

Auch bei den Metastasen bestätigte sich der hochsignifikante Unterschied in der *Ki-67*-Expression zwischen den verschiedenen Grading-Gruppen. Mit steigender Malignität der Metastasen war hier ebenfalls eine deutliche Zunahme der *Ki-67*-Werte zu verzeichnen.

Die Metastasen der G1- und G2-Tumore wiesen keine Unterschiede in der SSTR1-5- und in der CXCR4-Expression auf.

Auch konnten in Bezug auf die SSTR1-, SSTR3- und SSTR5-Expression keine Differenzen zwischen den verschiedenen Grading-Gruppen festgestellt werden.

In der SSTR2A-Expression zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den G2- und G3-Neoplasien, wobei die Werte mit zunehmender Malignität der Tumore abnahmen.

Bei der SSTR4-Expression fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den G1- und G3-Neoplasien sowie zwischen den G2- und G3-Tumoren. Hier nahmen die Werte mit steigender Malignität zu.

Bei der CXCR4-Expression konnten (wie bei der SSTR4-Expression) signifikante Unterschiede zwischen den Grading-Klassen G1 und G3 sowie G2 und G3 beobachtet werden. Hier wurden zunehmende Werte mit steigender Malignität verzeichnet.

Bis auf die Ki-67-Expression waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden G3-Gruppen nachweisbar.

Tabelle 29: Vergleich der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression zwischen den verschiedenen Grading-Klassen in allen Metastasen zusammengefasst. *: $p \leq 0,05$ (Mann-Whitney-Test)

	G1 vs. G2	G1 vs. G3	G2 vs. G3	G3a vs. G3b
SSTR1-Expression (IRS)				
p-Wert	0,780	0,128	0,096	0,156
SSTR2A-Expression (IRS)				
p-Wert	0,419	0,107	0,006*	0,217
SSTR3-Expression (IRS)				
p-Wert	0,326	0,295	0,630	0,652
SSTR4-Expression (IRS)				
p-Wert	0,954	0,032*	0,042*	0,658
SSTR5-Expression (IRS)				
p-Wert	0,260	0,103	0,304	0,839
CXCR4-Expression (IRS)				
p-Wert	0,539	<0,001*	<0,001*	0,804
Ki-67-Index				
p-Wert	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*

5.4 Überleben

5.4.1 Zusammenhang zwischen der Lokalisation des Primärtumors und dem Überleben

Die Überlebenszeit nach der Tumordiagnose zeigte zwischen den verschiedenen Primärtumorlokalisationen unterschiedliche Werte. Patienten mit einem Tumor des Pankreas lebten im Median 144 Monate nach ihrer Erstdiagnose. Bei Patienten mit einer NEN des Duodenum-Ileums lag das mediane Überleben bei 92 Monaten und bei Patienten mit einer NEN des Kolon-Rektums nur bei 74 Monaten (Tabelle 30). Zur Beantwortung der Frage, ob es einen Zusammenhang zwischen den verschiedenen Primärtumorlokalisationen und dem Überleben der Patienten gibt, wurde der Log-Rank-Test angewandt. Dabei konnte kein statistisch signifikanter Einfluss der Lokalisation des Primärtumors auf das Überleben der Patienten nachgewiesen werden.

Tabelle 30: Medianes Überleben der Patienten in Abhängigkeit von den verschiedenen Primärtumorlokalisationen

Primärtumorlokalisation	Medianes Überleben in Monaten [95%-Konfidenzintervall]	p-Wert
Pankreas	144 [90 – 197]	0,164
Duodenum-Ileum	92 [83 – 100]	
Kolon-Rektum	74 [44 – 105]	

5.4.2 Zusammenhang zwischen der Expression der Somatostatinrezeptoren und des CXCR4 und dem Überleben

Nach dem Log-Rank-Test zeigte sich für die verschiedenen Primärtumorlokalisationen ausschließlich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der CXCR4-Expression und dem medianen Überleben. Dazu wurden die Tumore entsprechend ihres IRS-Scores in drei verschiedene Gruppen aufgeteilt: Die Gruppe 1 umfasste dabei niedrig positive Tumore mit einem IRS-Wert von 0 bis 4, die Gruppe 2 beinhaltete Tumore mit einem IRS-Wert zwischen 5 und 8 und in die Gruppe 3 waren Tumore mit einem IRS-Wert ≥ 9 eingeteilt. Es ergab sich ein medianes Überleben von 171 Monaten für die Patienten in der Gruppe 1, von 115 Monaten für die Patienten, welche der Gruppe 2 zugehörig waren, und von 54 Monaten bei Patienten der Gruppe 3 (Tabelle 31). Die graphische Darstellung der Überlebenskurven für die 3 verschiedenen Gruppen der CXCR4-Expression erfolgte in Abbildung 18.

Tabelle 31: Medianes Überleben der Patienten in Abhängigkeit von der CXCR4-Expression, eingeteilt in verschiedenen Gruppen. *: $p \leq 0,05$

CXCR4-Gruppe nach IRS	Medianes Überleben in Monaten [95%-Konfidenzintervall]	p-Wert
CXCR4 IRS 0-4	171 [139 - 203]	0,009*
CXCR4 IRS 4-8	115 [115 - 115]	
CXCR4 IRS 9-12	54 [31 - 78]	

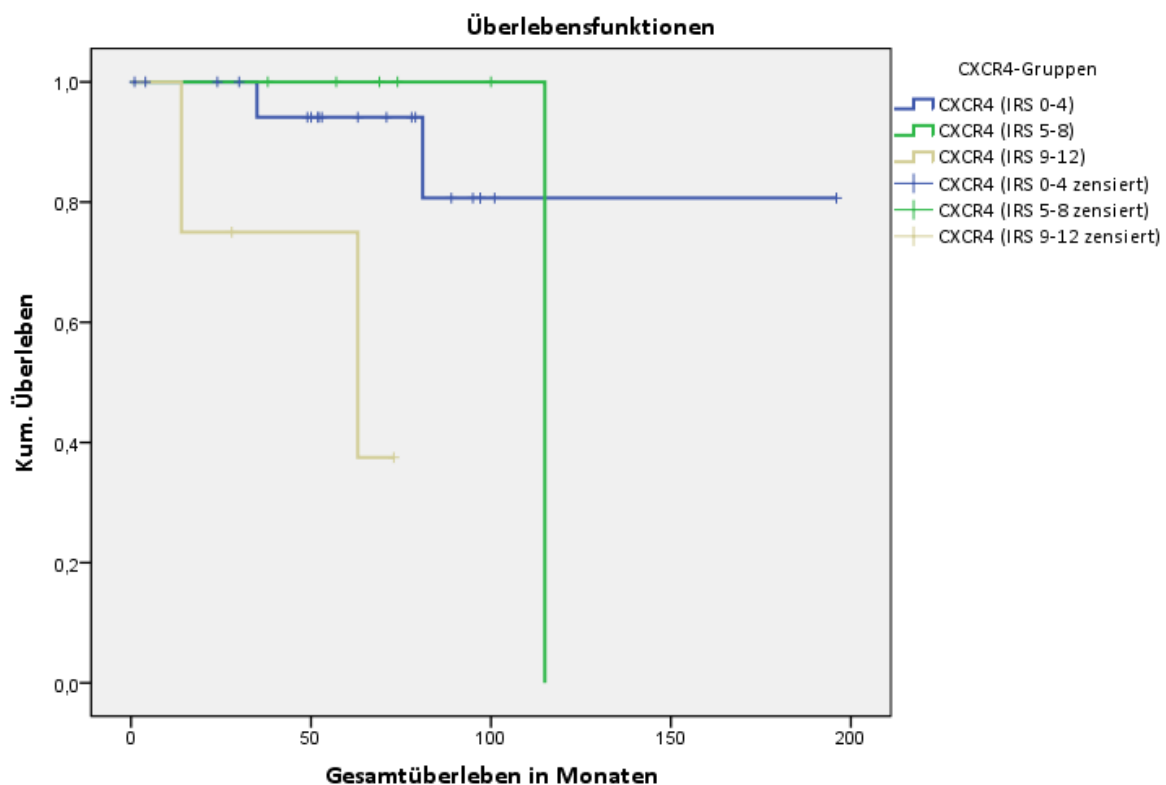


Abbildung 18: Darstellung des Überlebens der Patienten in Abhängigkeit von der Höhe der CXCR4-Expression

Analog zum CXCR4 erfolgte auch für den SSTR2A eine Einteilung der Tumore entsprechend ihres IRS-Scores in verschiedene Gruppen. Patienten der Gruppe 1 hatten ein medianes Überleben von 76 Monaten und Patienten der Gruppe 2 von 94 Monaten. Das längste mediane Überleben mit 177 Monaten konnte bei Patienten, welche der Gruppe 3 zugehörig waren und einen IRS-Score ≥ 9 hatten, beobachtet werden (siehe Tabelle 32). Die entsprechenden Überlebenskurven sind in Abbildung 19 dargestellt. Im Log-Rank-Test fand sich jedoch nur ein tendenzieller Zusammenhang zwischen der Höhe der SSTR2A-Expression und dem Überleben der Patienten ($p=0,139$), wobei Patienten mit einer höheren SSTR2A-Expression ein längeres Überleben aufwiesen.

Tabelle 32: Medianes Überleben in Abhängigkeit von der SSTR2A-Expression, eingeteilt in verschiedenen Gruppen

SSTR2A-Gruppe nach IRS	Medianes Überleben in Monaten [95%-Konfidenzintervall]	p-Wert
SSTR2A IRS 0-4	76 [41 - 111]	0,139
SSTR2A IRS 4-8	94 [63 - 124]	
SSTR2A IRS 9-12	177 [143 - 211]	

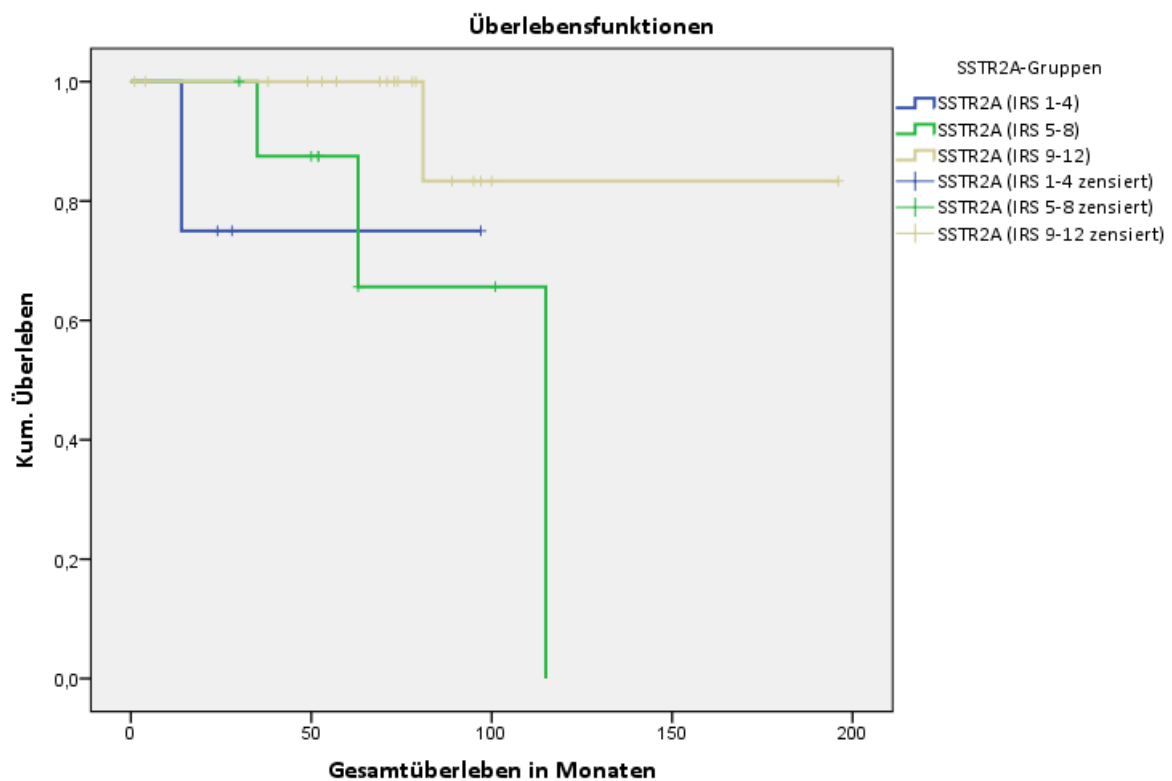


Abbildung 19: Darstellung des Überlebens der Patienten in Abhängigkeit von der Höhe der SSTR2A-Expression

Für alle anderen Somatostatinrezeptor-Subtypen und auch für das Ki-67 zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Expression und dem Überleben der Patienten.

6 Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung von verschiedenen gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Neoplasien in Bezug auf die Expression der 5 Somatostatinrezeptoren (SSTR1, SSTR2A, SSTR3, SSTR4 und SSTR5) und des Chemokinrezeptors CXCR4. Es sollte die Frage geklärt werden, ob es Unterschiede in der Rezeptorexpression zwischen den Primärtumorlokalisationen sowie zwischen den Primärtumoren und den entsprechenden Metastasen gibt. Zusätzlich sollte analysiert werden, ob das Grading der Tumore einen Einfluss auf die SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression hat.

Hierfür wurden 126 Gewebeproben von 40 Patienten mit histologisch gesichertem Befund eines GEP-NEN auf die Präsenz aller fünf SSTR-Subtypen und des Chemokinrezeptors CXCR4 immunhistochemisch untersucht.

6.1 Allgemeine Patientendaten

6.1.1 Alters- und Geschlechtsverteilung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die Tumorproben von insgesamt 40 Patienten mit einer GEP-NEN untersucht. Von diesen Patienten waren 20 weiblichen (50%) und 20 männlichen (50%) Geschlechts. Das mediane Durchschnittsalter der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung lag bei 59,5 Jahren. In einer Arbeit des deutschen NET-Registers betrug das mittlere Alter bei Erstdiagnose 56,4 Jahre, und liegt damit nur 2,6 Jahre unter den Ergebnissen dieser Arbeit. Die Alters- und Geschlechtsverteilung in der vorliegenden Arbeit, mit gleichmäßiger Geschlechtsverteilung und einen mittleren Lebensalter bei Diagnosestellung im 6. Lebensjahrzehnt, stimmt somit mit dem Angaben in der Literatur überein (Begum et al. 2014). In Tabelle 33 sind verschiedene Literaturangaben zur Alters- und Geschlechtsverteilung bei neuroendokrinen Neoplasien zusammengestellt.

Tabelle 33: Zusammenstellung von Literaturangaben zur Alters- und Geschlechtsverteilung von Patienten mit GEP-NEN. k.A.: keine Angaben

Autor(en)/ Publikationsjahr	Patientenzahl (N)	Geschlechtsverteilung		Tumorlokalisation	durchschnittliches Alter bei Diagnosestellung
		Männer	Frauen		
Ballantyne et al. (1992)	N=54	42,6%	57,4%	NET des Kolons	64,1 Jahre
Janson et al. (1997)	N=301	51,2%	48,8%	NET des Gastrointestinal- Trakts	62 Jahre
Schindl et al. (1998)	N=31	48,4%	51,6%	NET des Rektums	54 Jahre
Soreide et al. (2000)	N=154	51%	49%	NET des Gastrointestinal- Trakts	62 Jahre
Schindl et al. (2002)	N=58	58,6%	41,4%	NET des Dünndarms	61 Jahre
Modlin et al. (2003)	N=13715	44,9%	55,1%	NET des Gastrointestinal- Trakts, Pankreas, Gallenblase, Thymus, bronchopulmonal	k.A.
Van Gompel et al. (2004)	N=70	k.A.	k.A.	NET des Gastrointestinal- Trakts	56 Jahre
Begum et al. (2014)	N=2009	48%	52%	GEP-NEN	56,4 Jahre

6.1.2 Tumorlokalisation und Metastasierung

In Bezug auf die Tumorlokalisationen waren in unserer Arbeit die Primärtumore am häufigsten mit 42% der Fälle im Duodenum-Ileum lokalisiert, gefolgt vom Pankreas (30%) und dem Kolon-Rektum (28%) (siehe Abb. 7). Auch Zamora et al. (2010) konnten eine ähnliche Verteilung der Primärtumorlokalisationen zeigen. So waren bei Zamora et al. (2010) die Primärtumore am häufigsten im Dünndarm (38%) und im Pankreas (25%) lokalisiert, gefolgt von der Appendix (9%), dem Magen (8%), CUP (8%) und dem Rektum (6%). Allerdings zeigten sich große Abweichungen zwischen der vorliegenden Untersuchung und den Literaturangaben bezüglich der Pankreaslokalisation. In einer Studie von Modlin et al. (2003) wurden 10.878 Tumore des Surveillance, Epidemiology and End Result (SEER)-Programmes des National Cancer Institutes (USA) analysiert. Die Tumore des Dünndarms stellten mit

41,8% die größte Gruppe dar, gefolgt von denen des Dickdarms mit 27,4% und des Magens mit 8,7%. Das Pankreas war mit 0,73% der Fälle selten vertreten. Ein Grund für diese prozentual höheren Anteile in der vorliegenden Arbeit könnte in der hepato-biliären Spezialisierung der Zentralklinik Bad Berka als NET-Zentrum mit erweiterten diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten sein. Ein weiterer Grund könnte sein, dass pankreatische NEN (P-NEN) in älteren Studien nicht erfasst wurden, da historisch keine Trennung zwischen neuroendokrinen Neoplasien und damals als Inselzelltumore bezeichneten Neoplasien vorgenommen wurde (Pape et al. 2008a).

Bei der Mehrzahl der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Patienten (87,5%) lag bei Diagnosestellung bereits eine Metastasierung vor. Dabei war der überwiegende Teil der Metastasen in den Lymphknoten (45%) und in der Leber (34%) lokalisiert. Auch in einer Studie von Pape et al. (2004) konnten bei 74,3% der Patienten eine lymphogene und hepatische Metastasierung nachgewiesen werden. Dieser Befund der Erstdiagnose im fortgeschrittenem Tumorstadium ist kohärent mit dem Daten vieler epidemiologischer Studien, in denen gezeigt wurde, dass NEN überwiegend erst im metastasierten Stadium diagnostiziert werden (Scherübl et al. 2003, Pape et al. 2008a, Ter-Minassian et al. 2013).

6.1.3 Grading der Primärtumore

48,7% der 39 Patienten mit bekanntem Grading hatten einen G2-Tumor, gefolgt von denen mit einem G1- (30,8% der Fälle) und einem G3-Tumor (20,5% der Fälle). In einer Studie von Estrozi und Bacchi (2011) wurden die Daten von 773 GEP-NEN-Patienten analysiert. Somit ist diese Studie hinsichtlich der Fallzahl als die repräsentativere Untersuchung zu betrachten. Hier waren der größte Anteil G1-Tumore (73,2%), gefolgt von G3- (16,3%) und G2-differenzierten Neoplasien (10,5%).

6.2 Immunhistochemische Auswertung

6.2.1 Häufigkeiten der Somatostatinrezeptor-Subtypen

In der immunhistochemischen Analyse aller 126 untersuchten Tumorpräparate dominierte mit 92,9% der Fälle die SSTR2A-Expression, gefolgt von der des SSTR5, des SSTR3, des SSTR4 und des SSTR1. Auch Reubi et al. konnten bereits in verschiedenen Studien eine überwiegende Expression des SSTR2A in GEP-NEN zeigen (Reubi et al. 1992, Reubi et al. 1994a, Reubi et al. 1994b). In einer immunhistochemischen Auswertung von 94

Tumorproben von GEP-NEN zur Rezeptorexpression der 5 SSTR-Subtypen von Zamora et al. (2010) dominierte ebenfalls die SSTR2A-Expression, mit über 80% der Fälle. Somit waren der SSTR2A und der SSTR5 die am häufigsten nachgewiesenen Subtypen, gefolgt vom SSTR1. Der SSTR3 und der SSTR4 wurden nur in wenigen Fällen nachgewiesen. Auch in der Arbeit von Kulaksiz et al. (2002) überwog die Expression des SSTR2A, gefolgt von der des SSTR5, des SSTR3 und des SSTR1. Die vorrangige SSTR2A-Expression in GEP-NEN konnte somit in der vorliegenden Arbeit in Übereinstimmung mit vorausgegangenen Studien exakt bewiesen werden.

In Bezug auf die Häufigkeit der SSTR-Subtyp-Expression in NEN des Pankreas überwog in der vorliegenden Studie der SSTR2A, gefolgt vom SSTR5, vom SSTR3 und dem SSTR4 und schließlich dem SSTR1. Auch Zamora et al. (2010) konnten in einer Analyse von pankreatischen und nicht-pankreatischen neuroendokrinen Neoplasien eine ähnliche Häufigkeitsverteilung der SSTR-Subtypen bei NEN des Pankreas zeigen. Hier waren bei den pankreatischen NEN, wie auch in der vorliegenden Arbeit, der SSTR2A und der SSTR5 am häufigsten nachweisbar. Auch die Angaben von Papotti et al. (2002), die immunhistochemische Untersuchungen an 22 pankreatischen Tumorproben durchgeführt hatten, sind hinsichtlich der Häufigkeitsverteilung der SSTR-Subtypen (SSTR2A > SSTR5 > SSTR3) mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit vergleichbar.

In der Auswertung hinsichtlich der Häufigkeitsverteilung der SSTR-Subtypen in den Tumorproben des Duodenum-Ileums war der SSTR2A erneut am häufigsten vertreten, gefolgt vom SSTR5, dem SSTR3, dem SSTR1 und dem SSTR4. Reubi und Waser (2003) zeigten bei 27 NEN des Ileums, dass auch hier der SSTR2 (96%) der am häufigsten nachweisbare SSTR-Subtyp war, gefolgt von dem SSTR1 (52%), dem SSTR5 (48%), dem SSTR3 (15%) und dem SSTR4 (4%). Die vorherrschende SSTR2-Expression konnte in dieser Arbeit ebenfalls bestätigt werden. Diskrepante Ergebnisse in der Rezeptorexpression sind vor allem durch die erheblich divergenten Fallzahlen der Studien und durch technische Aspekte (Autoradiographie vs. Immunhistochemie) begründet.

Bezüglich der Häufigkeit der SSTR-Subtyp-Expression in NEN des Kolon-Rektums dominierte in der vorliegenden Arbeit ebenfalls der SSTR2A, gefolgt vom SSTR3, dem SSTR5, dem SSTR4 und schließlich dem SSTR1. Yerci et al. (2015) analysierten in einer Studie die SSTR2- und SSTR5-Expression in verschiedenen GEP-NEN. Sie konnten eine verstärkte SSTR2-Expression

in NEN der Appendix (SSTR2: 85,7%, SSTR5: 71,5%) und des Rektums (SSTR2: 100%, SSTR5: 66,6%) im Vergleich zur SSTR5-Expression zeigen. Somit konnte auch hier die vorrangige SSTR2-Expression mit der vorliegenden Arbeit belegt werden. Die Häufigkeitsverteilung der SSTR1-, SSTR3- und SSTR4-Expression wurde von den Autoren nicht untersucht und konnte aus diesem Grund nicht mit den Ergebnissen dieser Arbeit verglichen werden.

6.2.2 Unterschiede in der SSTR1-5-, Ki-67- und CXCR4-Expression zwischen den verschiedenen Primärtumorlokalisationen und den entsprechenden Metastasen

Bei allen Lokalisationen zusammengenommen zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Primärtumoren und Metastasen. Da die Neoplasien jedoch abhängig von der Lokalisation des Primärtumors im Gastrointestinaltrakt teilweise erhebliche Unterschiede im SSTR- und CXCR4-Expressionsprofil aufwiesen, könnte dies bei einer Betrachtung von allen Tumoren zusammengenommen zu einer Maskierung der Unterschiede zwischen Primärtumoren und Metastasen geführt haben.

Pankreas

Beim Vergleich zwischen den Primärtumoren des Pankreas und den entsprechenden Metastasen fand sich eine höhere SSTR1, SSTR3 und SSTR5-Expression in den Metastasen im Vergleich zu den Primärtumoren, jedoch keine Unterschiede in der SSTR2A-, SSTR4-, CXCR4- und Ki-67-Expression. Unsere Ergebnisse stehen im Gegensatz zu einer Studie von Kaemmerer et al. (2015c). In dieser Studie wurden 39 P-NEN (17 PT, 22 MTS) untersucht. Kaemmerer et al. (2015c) zeigten anders als in der vorliegenden Arbeit eine signifikant höhere SSTR2A-Expression in den Primärtumoren, verglichen mit den Metastasen (IRS SSTR2A PT: $8,8 \pm 3,6$ vs. MTS: $5,1 \pm 4,5$; $p=0,022$). In Bezug auf die Primärtumore ergab sich bei beiden Studien ein nahezu identischer IRS-Score. Somit stellen sich unsere Ergebnisse konträr zu dieser Vorarbeit dar. Die immunhistochemische Auswertung der Tumorproben basiert auf einer semiquantitativen Methode und einer subjektiven Beurteilung. Die unterschiedlichen Ergebnisse zwischen beiden Studien könnten daher durch einen Interobserver-Bias erklärt werden, da die immunhistochemischen Methoden und Materialien identisch waren. In Bezug auf die in der vorliegenden Arbeit gefundene signifikant höhere SSTR5-Expression in den Metastasen konnten auch Schmid et al. (2012) einen signifikanten Zusammenhang zwischen der SSTR5-Expression und dem Auftreten von

Metastasen und einer Invasion der Gefäße bei NEN belegen. Somit könnte der SSTR5 mit einem aggressiveren Verhalten der Tumore in Zusammenhang stehen.

Duodenum-Ileum

In der immunhistochemischen Untersuchung zwischen den Primärtumoren des Duodenum-Ileums und den entsprechenden Metastasen zeigte sich ein deutlicher, jedoch grenzwertig nicht signifikanter Unterschied in der SSTR2A- und SSTR1-Expression, mit niedrigeren IRS-Werten in den Metastasen im Vergleich zu den Primärtumoren. Auch Nasir et al. (2006) analysierten die Intensität der SSTR-Subtyp-Färbung von Primärtumoren und dazugehörigen Metastasen in GEP-NEN. So konnten sie bei einer NEN des Duodenums und der dazugehörigen Lebermetastase gleiche Expressionsstärken des SSTR2, des SSTR4 und des SSTR5 verzeichnen. In der SSTR1-Expression zeigte sich eine höhere und in der SSTR3-Expression eine niedrigere Intensität der Färbung in der Metastase im Vergleich zu dem Primärtumor. In einer untersuchten Ileum-NEN und den 3 dazugehörigen Metastasen konnten in der SSTR-Subtyp-Expression gleiche oder höhere Werte in den Metastasen im Vergleich zum Primärtumor beobachtet werden. In unserer Arbeit, mit einer deutlich höheren Fallzahl (21 PT, 41 MTS), war die SSTR1- und SSTR2A-Expression in den Metastasen im Vergleich zu den Primärtumoren dagegen eher niedriger.

Kolon-Rektum

Zwischen den Primärtumoren des Kolon-Rektums und den dazugehörigen Metastasen konnten in der vorliegenden immunhistochemischen Untersuchung keine signifikanten Unterschiede aufgezeigt werden.

Ki-67-Expression zwischen den verschiedenen Primärtumorklokalisationen

Bei den Metastasen des Pankreas, des Duodenum-Ileums und des Kolon-Rektums fand sich eine höhere Expression des Proliferationsmarkers Ki-67 im Vergleich zu den Primärtumoren, wenngleich der Unterschied statistisch nicht signifikant war. Zen und Heaton (2013) untersuchten in einer retrospektiven Studie ebenfalls neuroendokrine Tumore des Dünndarms und des Pankreas (G1- und G2-differenziert) hinsichtlich der Expression des Proliferationsmarkers Ki-67 in den Primärtumoren und in den dazugehörigen synchronen Metastasen. Hier konnten sie bei 20 Patienten (67%) ähnliche Ki-67 Werte (<2% Differenz) bei den Primärtumoren und den Metastasen feststellen. Dennoch fanden sie bei 10

Patienten (33%) eine Erhöhung des Ki-67-Indexes von 3,4% bis auf 14,4% in den dazugehörigen Lebermetastasen im Vergleich zu den Primärtumoren. Diese Erhöhung der Ki-67-Expression wurde vor allen in den G2- und weniger in den G1-differenzierten Neoplasien beobachtet. Auch Dhall et al. (2012) konnten höhere Ki-67 Werte in den Fernmetastasen im Vergleich zu den gut differenzierten Primärtumoren des Ileums und deren regionalen Metastasen zeigen.

Yildiz et al. (2010) belegten in einer Studie, dass kolorektale NEN mit einer hohen Sterblichkeit und einer höheren Ki-67-Expression assoziiert sind im Vergleich zu anderen GEP-NEN. Auch wir fanden bei der Betrachtung des Ausmaßes der Ki-67-Expression in den NEN des Kolon-Rektums die höchste Ki-67-Expression im Vergleich zu anderen Primärtumorlokalisationen und unterschiedlicher Herkunft der Metastasen. Somit konnten wir sowohl zwischen den verschiedenen Primärtumorlokalisationen und dazugehörigen Metastasen zusammengekommen, bei den Primärtumoren allein als auch bei der Betrachtung der Metastasen allein Unterschiede zwischen den neuroendokrinen Tumoren des Duodenum/Ileums und des Kolon/Rektums belegen, mit jeweils höheren IRS-Werten bei den Tumoren des Kolon/Rektums im Vergleich zu denen des Duodenum/Ileums.

Erstmals wurden in der vorliegenden Arbeit die Unterschiede in der SSTR1-5- und Ki-67-Expression zwischen verschiedenen Primärtumorlokalisationen sowie zwischen den unterschiedlichen Herkunftsorten der Metastasen untersucht. Zum aktuellen Zeitpunkt steht nur eine limitierte Anzahl von Studien zur Verfügung, die Angaben zur gleichzeitigen immunhistochemischen Analyse der SSTR1-5-Expression gibt. Zamora et al. (2010) analysierten zwar die verschiedenen SSTR-Subtypen, eine Korrelation zwischen der Intensität der SSTR1-5-Expression wurde allerdings nicht untersucht, sodass für eine präzise Beurteilung der vorliegenden Ergebnisse weitere immunhistochemische Analysen notwendig sind.

6.2.3 Unterschiede in der SSTR1-5-, CXCR4- und Ki-67-Expression in Abhängigkeit vom Grading

Im Vergleich aller Tumore in Abhängigkeit vom Grading konnten signifikante Unterschiede in der SSTR1-, SSTR2A-, SSTR4-, CXCR4- und Ki-67-Expression verzeichnet werden, nicht jedoch in der SSTR3- und SSTR5-Expression.

In einer Arbeit von Kaemmerer et al. (2015b) wurden 121 Tumorproben von 64 Patienten mit GEP-NEN verschiedener Grading-Klassen immunhistochemisch untersucht. Auch bei Kaemmerer et al. (2015b) wurde die Gruppe der G3-Karzinome in eine besser differenzierte (G3a) und eine schlecht differenzierte (G3b) Subgruppe unterteilt. Zwischen den G1- und G3a-Neoplasien konnten dabei hinsichtlich der SSTR2A- (IRS 12,0 vs. 4,0; $p < 0,001$) und der CXCR4-Expression (IRS 2,0 vs. 4,0; $p = 0,049$) signifikante Unterschiede beobachtet werden. Zwischen den G1- und G3b-Neoplasien zeigten sich signifikante Unterschiede in der SSTR1- (IRS 3,0 vs. 0,5; $p = 0,002$), in der SSTR2A- (IRS 12,0 vs. 4,0; $p < 0,001$) und in der CXCR4-Expression (IRS 2,0 vs. 7,5; $p < 0,001$). Zwischen G2- und G3a-Neoplasien waren hinsichtlich der SSTR2A- (IRS 12,0 vs. 4,0; $p < 0,001$) und in der SSTR3-Expression (IRS 4,0 vs. 3,0; $p = 0,028$) signifikante Unterschiede zu sehen. Weitere statistisch signifikante Unterschiede wurden zwischen den G2- und G3b-Neoplasien in der SSTR1- (IRS 3,0 vs. 0,5; $p = 0,008$), in der SSTR2A- (IRS 12,0 vs. 4,0; $p < 0,001$) und in der CXCR4-Expression (IRS 3,0 vs. 7,5; $p < 0,001$) nachgewiesen. Somit konnten die signifikanten Unterschiede in der SSTR2A- und in der CXCR4-Expression aus der Arbeit von Kaemmerer et al. (2015b) zwischen den verschiedenen Grading-Klassen (G1 vs. G3a; G1 vs. G3b; G2 vs. G3b) in dieser Arbeit komplett bestätigt werden. Im Gegensatz dazu konnten wir die bei Kaemmerer et al. (2015b) beschriebenen signifikanten Unterschiede in der SSTR1- und SSTR3-Expression zwischen den verschiedenen Grading-Stufen nicht nachweisen. Insgesamt konnten Kaemmerer et al. (2015b), wie in der vorliegenden Arbeit, bei der SSTR2A-Expression abnehmende und bei der CXCR4-Expression zunehmende IRS-Werte mit steigender Malignität/Entdifferenzierung der Tumore feststellen. Ein ähnlicher inverser Zusammenhang zwischen der SSTR2A-Expression und dem Tumorgrading wurde auch in anderen Studien nachgewiesen (Papotti et al. 2002, Zamora et al. 2010, Mizutani et al. 2012, Okuwaki et al. 2013). Demnach ist anzunehmen, dass der SSTR2A in GEP-NEN als positiver Prognoseparameter gilt, da das Überleben der Patienten mit dem Grading assoziiert ist (Papotti et al. 2002, Pape et al. 2008b, Mehta et al. 2015).

Weitere Studien, die die Koexpression der SSTR1-5 und des CXCR4 bei GEP-NEN untersucht haben, stehen zum aktuellen Zeitpunkt nicht zur Verfügung. Dennoch gibt es eine begrenzte Anzahl von Literatur über die CXCR4-Expression in neuroendokrinen Neoplasien. So konnten Circelli et al. (2016) bei 90% der untersuchten GEP-NEN eine positive Immunfärbung für den CXCR4 sowie eine signifikante Korrelation zwischen der CXCR4-Expression und der des Proliferationsmarkers Ki-67 zeigen. Dabei wurde der CXCR4 stärker in entdifferenzierten G3-

Karzinomen exprimiert als in G1-/G2-Neoplasien. Deschamps et al. (2012) beschrieben ebenfalls eine höhere CXCR4-Expression in G2- als in G1-differenzierten Neoplasien. Weiterhin konnten die Autoren beweisen, dass eine CXCR4-Expression bei neuroendokrinen Neoplasien des Ileums mit einer signifikant höheren Rate an Lymphknotenmetastasen, einem fortgeschrittenen T-Stadium, einer Perineuralscheideninfiltration und einem verminderten Gesamtüberleben assoziiert ist (Deschamps et al. 2012). Auch wir konnten in unseren Ergebnissen belegen, dass die Höhe der CXCR4-Expression mit steigendem Grading signifikant zunahm.

Song et al. (2016) analysierten 199 neuroendokrine Neoplasien des Pankreas bezüglich der Prognose und der SSTR-Expression. Sie konnten zeigen, dass Patienten mit P-NEN im G3-Stadium eine signifikant geringere Überlebenszeit aufwiesen als Patienten in einem G1- oder G2-Stadium. Ebenfalls beschrieben die Autoren eine verminderte Überlebenszeit von Patienten mit G2- im Vergleich zu Patienten mit G1-differenzierten Tumoren. Weiterhin wurde in P-NEN eine höhere SSTR5-Expression in gut-differenzierten (G1)-Tumoren im Vergleich zu G2- und G3-differenzierten Neoplasien beobachtet. Eine Positivität für den SSTR2 oder den SSTR5 in P-NEN war mit einer besseren Prognose assoziiert. Weiterhin war mit zunehmenden Grading eine Abnahme der Expression der SSTR1-5 zu verzeichnen. In unserer Arbeit konnten wir (wenn auch nicht immer statistisch signifikant), sowohl bei der Analyse aller Primärtumoren und Metastasen zusammengekommen als auch einzeln betrachtet, ebenfalls eine Abnahme in der SSTR2A-Expression mit zunehmender Entdifferenzierung bzw. steigendem Grading nachweisen. Konträr dazu stellten sich die Ergebnisse in Bezug auf die SSTR5-Expression dar, da mit zunehmender Malignität der Neoplasien ein Anstieg der SSTR5-Expression assoziiert war. Dieses Ergebnis wurde ebenfalls von Kaemmerer et al. (2015b) beschrieben, die eine ansteigende SSTR5-Expression bei GEP-NEN mit zunehmender Entdifferenzierung der Neoplasien beobachten konnten.

Interessanterweise konnten signifikante Unterschiede zwischen den Grading-Klassen und der SSTR4-Expression sowohl bei der Betrachtung aller Proben zusammengekommen als auch in der Einzelanalyse nur der Primärtumoren oder der Metastasen verzeichnet werden. Hier zeigten sich steigende IRS-Werte mit zunehmender Malignität. Hierbei sollte allerdings beachtet werden, dass der anti-SSTR4-Antikörper in der vorliegenden Arbeit der einzige eingesetzte polyklonale Antikörper war, da es bisher noch nicht gelungen ist, einen

entsprechenden monoklonalen Antikörper zu generieren. Bereits Kaemmerer et al. (2015a) konnten mit diesem Antikörper diskrepante Ergebnisse zwischen der immunhistochemisch und mittels PCR ermittelten SSTR4-Expression feststellen. Daher sollten die Ergebnisse mit Zurückhaltung interpretiert werden.

6.2.4 CXCR4-Expression in gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Neoplasien

Eine erhöhte CXCR4-Expression wurde bereits in einer Vielzahl von verschiedenen Tumorentitäten beobachtet und konnte mit dem Auftreten von Metastasen und einem reduzierten Gesamtüberleben der Patienten in Verbindung gebracht werden (Hiller et al. 2011, He et al. 2013, Choi et al. 2016). So konnte in einer Studie, in welcher duktale Adenokarzinome des Pankreas untersucht wurden, ein signifikanter Zusammenhang zwischen der CXCR4-Expression und dem Gesamtüberleben der Patienten nachgewiesen werden. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die CXCR4-Expression in den Primärtumoren mit einem fortgeschrittenen Tumorstadium und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen assoziiert ist (Haberle et al. 2015, Krieg et al. 2015). Auch bei kolorektalen Neoplasien konnte belegt werden, dass die CXCR4-Expression mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten eines Rezidivs, mit der Entstehung von Metastasen, mit einem fortgeschrittenem Tumor-Stadium und mit einem reduziertem Überleben korreliert (Gao et al. 2014, Amara et al. 2015, Muders und Baretton 2015, Wu et al. 2016). Vergleichbare Daten zur CXCR4-Expression in GEP-NEN liegen bisher jedoch nur sehr limitiert vor (Deschamps et al. 2012, Circelli et al. 2016).

Werner et al. (2017) untersuchten die CXCR4-Expression mit einem ^{68}Ga -Pentixafor-PET/CT bei Patienten mit einer GEP-NET der Grading-Klassen G1-G3 im Vergleich zu einem ^{68}Ga -DOTATOC und einem ^{18}F -FDG-PET/CT. Dabei konnten sie, wie auch in unserer Arbeit, die Zunahme der CXCR4-Expression von G1- zu G3-Neoplasien erstmals klinisch belegen. Im Gegensatz zu den schlecht-differenzierten NEC, wiesen auch in dieser Studie gut-differenzierte GEP-NEN keine relevante CXCR4-Expression auf (Werner et al. 2017). Somit konnten unsere Ergebnisse in dieser klinischen Studie exakt belegt werden.

In der vorliegenden Untersuchung wurde beim Vergleich der verschiedenen Primärtumorlokalisationen in den pankreatischen NEN die höchste CXCR4-Expression verzeichnet, gefolgt von den kolorektalen-NEN. Am niedrigsten war sie in Primärtumoren des Duodenum-Ileums. Diese Unterschiede waren allerdings nicht signifikant. Bei der

Differenzierung nach den verschiedenen Herkunftsarten der Metastasen zeigte sich die höchste CXCR4-Expression in den kolorektalen Metastasen, gefolgt von den Metastasen des Pankreas und schließlich den Metastasen des Duodenum-Ileums. Auch hier waren die Unterschiede nicht signifikant. Des Weiteren wurde eine höhere CXCR4-Expression in den kolorektalen Metastasen im Vergleich zu den entsprechenden Primärtumoren beobachtet. Dagegen zeigten sich keine Unterschiede zwischen den pankreatischen und den duodeno-ilealen Primärtumoren und deren Metastasen. Die in der vorliegenden Untersuchung festgestellte höhere CXCR4-Expression in den Metastasen bestätigt somit indirekt die bereits in der Literatur beschriebene Beteiligung des CXCR4 bei Metastasierungsprozessen. In der vorliegenden Arbeit zeigte sich zudem, wie bereits in der Literatur mehrmals beschrieben, ein enger Zusammenhang zwischen der Ki-67-Expression bzw. dem Grading und der CXCR4-Expression der Tumore. Der CXCR4 stellt somit eine möglicherweise vielversprechende Zielstruktur für die Therapie fortgeschrittener, metastasierter GEP-NEN dar.

6.2.5 Überleben

Bei den verschiedenen Primärtumorlokalisationen zeigten sich unterschiedliche mediane Überlebenszeiten der Patienten. Die längste mediane Überlebenszeit ergab sich bei NEN des Pankreas mit 144 Monaten, gefolgt von Tumoren des Duodenum-Ileums mit 92 Monaten. Die schlechteste Prognose mit einem medianen Überleben von nur 74 Monaten hatten Patienten mit einem neuroendokrinen Tumor des Kolon-Rektums.

In Bezug auf den Einfluss der Expression der verschiedenen Rezeptoren auf die Überlebenszeit der GEP-NEN-Patienten konnte ausschließlich für den CXCR4 ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit dem Überleben festgestellt werden.

Dabei zeigten Patienten mit einem niedrigen IRS-Score ein längeres medianes Überleben als solche mit einer hohen CXCR4-Expression (Abbildung 18). In einer Vielzahl von Studien, in denen ein Zusammenhang zwischen der CXCR4-Expression und dem Gesamtüberleben betrachtet wurde, stellt sich dar, dass die Anwesenheit des CXCR4 mit einer erhöhten Rate an Lymphknoten- und Fernmetastasen assoziiert ist und dass das Gesamtüberleben der Patienten signifikant negativ beeinflusst wird (He et al. 2013, Zhang et al. 2014). Auch die Arbeitsgruppe von Deschamps et al. (2012) konnte in einer Studie, in welcher die CXCR4-Expression bei GEP-NEN untersucht wurde, belegen, dass eine erhöhte CXCR4-Expression mit einem statistisch signifikant vermehrten Auftreten von Lymphknotenmetastasen, einem

fortgeschrittenen T-Stadium, einer Perineuralscheideninfiltration und einem verminderten Gesamtüberleben der Patienten verbunden ist. Ebenso konnten Kaemmerer et al. (2015b) einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der CXCR4-Expression und dem Gesamtüberleben der Patienten zeigen. Somit bestätigen unsere Ergebnisse die Daten aus der Literatur.

Im Gegensatz zum CXCR4 war eine hohe SSTR2A-Expression in unserer Studie mit einem nicht-signifikant, aber deutlich verlängerten Gesamtüberleben der Patienten assoziiert. So wiesen Patienten mit einer hohen SSTR2A-Expression ein medianes Überleben von 176 Monaten und Patienten mit einer niedrigen SSTR2A-Expression von 76 Monaten auf. Im Vergleich dazu konnte in zahlreichen Studien eine Signifikanz für diesen Zusammenhang belegt werden (Kaemmerer et al. 2015b, Mehta et al. 2015, Brunner et al. 2017), weshalb der SSTR2A als positiver Prognosefaktor angesehen werden kann. Eine Ursache für die fehlende Signifikanz in unseren Untersuchungen könnte die im Vergleich zu den anderen Studien deutlich geringere Fallzahl sein. Die Expression aller anderen SSTRs hatte keinen Einfluss auf das Überleben der Patienten, was sich auch mit den Ergebnissen vieler anderer Untersuchungen deckt (Kaemmerer et al. 2015b, Mehta et al. 2015, Qian et al. 2016). Dennoch konnten Corleto et al. (2009) in einer Studie, welche allerdings nur eine geringe Fallzahl aufwies, einen signifikanten Zusammenhang zwischen der SSTR2A- und SSTR5-Expression und einem niedrigen Ki-67 ($< 2\%$) und dem Überleben zeigen (Corleto et al. 2009).

7 Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmalig eine umfangreiche vergleichende Untersuchung zur SSTR1-5, CXCR4- und Ki-67-Expression in Primärtumoren und Metastasen gastroenteropankreatischer neuroendokriner Neoplasien verschiedener Lokalisationen durchgeführt.

Hierbei konnten wir die vorherrschende SSTR2A-Expression in den gut (G1)- bis mäßig gut (G2)- differenzierten GEP-NEN belegen. Vor allem die SSTR2A-Positivität der Neoplasien ist für eine molekulare Bildgebung und aus therapeutischer Sicht mit Hinblick auf die Durchführung einer SSTR-basierten Pharmakotherapie oder Radionuklidtherapie von großer Bedeutung. Die funktionelle Bildgebung mit den ⁶⁸Ga-DOTA-Peptiden (TOC, TATE) steht in direkter Korrelation zur Anzahl der SSTR2A-Rezeptoren. Im Gegensatz dazu erscheinen GEP-NEC, und besonders hochproliferative GEP-NEC (G3b), in der überwiegenden Zahl der Fälle hierfür als ungeeignet, da sie eine geringere SSTR2A-Expression aufweisen. Ebenfalls zeigten vorausgegangene Studien ein erhöhtes Therapieansprechen auf eine Radionuklidtherapie bei starker SSTR2A-Expression.

Bei der immunhistochemischen Untersuchung der SSTR-Expression in den verschiedenen Primärtumorlokalisationen und den dazugehörigen Metastasen konnten wir eine geringere SSTR2A- und im Gegensatz dazu eine höhere SSTR5-Expression in den Metastasen im Vergleich zu den Primärtumoren zeigen. Demzufolge würde sich für bereits metastasierte Tumore eine Therapie mit Pan-Somatostatinanaloga eignen, da diese an alle 5 SSTR-Subtypen binden können. Gerade bei einem differenten SSTR-Expressionsprofil in den Metastasen im Vergleich zu den Primärtumoren könnten diese Analoga von Vorteil sein.

Der in vielen Studien beschriebene inverse Zusammenhang zwischen dem Differenzierungsgrad neuroendokriner Neoplasien und der Rezeptorexpression konnte in dieser Arbeit für den SSTR2A belegt werden. Hierbei zeigten sich eine Abnahme der SSTR2A-Expression mit zunehmender Malignität der Tumore.

Erstmalig wurden in der vorliegenden Arbeit immunhistochemische Untersuchungen zur CXCR4-Expression in GEP-NEN durchgeführt. Insgesamt zeigte sich, dass mit zunehmender Entdifferenzierung (G1 zu G3) der GEP-NEN ein Anstieg der CXCR4-Expression zu verzeichnen ist. Die G1- und G2-differenzierten Tumore wiesen keine oder nur eine schwache CXCR4-

Expression auf und erscheinen somit für eine CXCR4-basierte medikamentöse Therapie und Bildgebung nicht geeignet. Bei den G3-differenzierten GEP-NEC konnten wir dagegen eine deutlich stärkere CXCR4-Expression beobachten. Somit könnten Patienten mit einer hochproliferativen neuroendokrinen Tumorerkrankung von neuen diagnostischen Möglichkeiten in der molekularen Bildgebung und von einer Therapie mit CXCR4-Inhibitoren profitieren. Mit ^{68}Ga -Pentixafor (^{68}Ga -CPCR4-2) steht bereits ein neuer Tracer für die Positronenemissionstomographie zur Verfügung, um CXCR4 exprimierende Zellen darzustellen. Auch findet bereits eine CXCR4-basierte Radionuklidtherapie mit dem CXCR4-Liganden Therixafor® in experimentellen Studien Anwendung.

Erwartungsgemäß konnten wir zusätzlich hochsignifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Grading-Klassen in der Ki-67-Expression, mit steigenden Werten mit zunehmender Entdifferenzierung der Tumore, nachweisen.

In Bezug auf die Lokalisation der Tumore konnten wir die höchste CXCR4-Expression in kolorektalen neuroendokrinen Neoplasien beobachten, welche auch die höchste Proliferationsrate (Ki-67-Index) aller Primärtumorlokalisationen aufwiesen. Daher könnten kolorektale neuroendokrine Neoplasien zukünftig am ehesten für CXCR4-basierte zielgerichtete Therapien in Frage kommen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstreichen die Notwendigkeit einer grundlagenorientierten Forschung zur Expression von Neuropeptidrezeptoren als molekulare Zielstrukturen zur Diagnostik und Therapie von Tumoren. Nur mit genauen Kenntnissen über die SSTR-Subtyp-Verteilung in den verschiedenen Tumorentitäten können die aktuell verfügbaren Somatostatinanaloga zielgerichtet angewendet werden. Die unterschiedlichen Expressionsraten der verschiedenen SSTR-Subtypen in Abhängigkeit von der Lokalisation und vom Grading der neuroendokrinen Tumore machen deutlich, dass bevorzugt nur auf den SSTR2A abzielende Somatostatinanaloga für die Bildgebung (PET-CT) und Therapie von neuroendokrinen Neoplasien nicht immer geeignet sind, sondern dass in manchen Fällen der Einsatz von modernen Pan-Somatostatin-Analoga, die ein breiteres SSTR-Bindungsspektrum aufweisen, erwogen werden sollte. Zusätzlich zu den SSTRs bietet sich bei entdifferenzierten gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Neoplasien auch der CXCR4 als vielversprechende zukünftige Zielstruktur für eine molekulare Diagnostik und Therapie an.

Literaturverzeichnis

- Adamietz IA, Zeller S. 2011. Strahlentherapie neuroendokriner Tumoren. *Der Onkologe*, 17 (7):621-626.
- Amara S, Chaar I, Khiari M, Ounissi D, Weslati M, Boughriba R, Hmida AB, Bouraoui S. 2015. Stromal cell derived factor-1 and CXCR4 expression in colorectal cancer promote liver metastasis. *Cancer Biomark*, 15 (6):869-879.
- Amthauer H, Ruf J, Rösch T, Ricke J. 2004. Bildgebung bei neuroendokrinen Tumoren. *Der Onkologe*, 10 (6):588-597.
- Anlauf M, Gerlach P, Schott M, Raffel A, Krausch M, Knoefel WT, Pavel M, Kloppel G. 2011. Pathology of neuroendocrine neoplasms. *Chirurg*, 82 (7):567-573.
- Arnold R. 1997. Das Carcinoid - eine in Frage gestellte Entität? *Chirurg*, 68:132-135.
- Arnold R. 2008. Neuroendokrine Tumoren. *Best Practice Onkologie*, 3 (1):20-31.
- Arnold R, Langer P, Rothmund M, Klöppel G, Kann PH, Heverhagen JT, Fendrich V, Bartsch DK, Rinke A, Müller X, Klose KJ, Brenner W, Prasad V, Wiedenmann B, Jann H, Gress T, Pascher A, Neuhaus P, Habbe N, Simon B, Stinner B. 2013. Endokrine Tumoren des gastroenteropankreatischen Systems.
- Auernhammer CJ, Spitzweg C, Heinemann V, Goke B. 2012. Medicinal therapy of metastasized neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system. *Internist (Berl)*, 53:167-176.
- Avanesov M, Karul M, Derlin T. 2015. 68Ga-pentixafor PET: clinical molecular imaging of chemokine receptor CXCR4 expression in multiple myeloma. *Radiologe*, 55 (10):829-831.
- Balkwill F. 2004a. The significance of cancer cell expression of the chemokine receptor CXCR4. *Semin Cancer Biol*, 14 (3):171-179.
- Balkwill F. 2004b. Cancer and the chemokine network. *Nat Rev Cancer*, 4 (7):540-550.
- Ballantyne GH, Savoca PE, Flannery JT, Ahlman MH, Modlin IM. 1992. Incidence and mortality of carcinoids of the colon. Data from the Connecticut Tumor Registry. *Cancer*, 69 (10):2400-2405.
- Baum RP, Hofmann M. 2004. Nuklearmedizinische Diagnostik neuroendokriner Tumoren. *Der Onkologe*, 10 (6):598-610.
- Bausch D, Keck T. 2013. Chirurgie endokriner Tumoren des Pankreas. *Der Onkologe*, 19 (3):224-229.
- Begum N, Maasberg S, Plöckinger U, Anlauf M, Rinke A, Pöppel G, Lehnert H, Izbicki JR, Krausch M, Vashist YK, Raffel A, Bürk CG, Hoffmann J, Goretzki P, Pape UF. 2014. Neuroendocrine tumours of the GI-tract – Data from the German NET Registry. 139 (3):276-283.
- Bergmann F. 2013. Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms. Role of biopsies. *Pathologe*, 34 Suppl 2:221-225.
- Beuschlein F, Reincke M. 2012. Neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system. An interdisciplinary challenge. *Internist (Berl)*, 53 (2):129-130.
- Böcker W, Denk H, Heitz PU, Höfler G, Kreipe H, Moch H. 2012. Pathologie. 5., vollständig überarbeitete Auflage, München: Urban & Fischer Verlag.
- Brown DC, Gatter KC. 1990. Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology. *Histopathology*, 17 (6):489-503.
- Brunner P, Jorg AC, Glatz K, Bubendorf L, Radojewski P, Umlauf M, Marincek N, Spanjol PM, Krause T, Dumont RA, Maecke HR, Muller-Brand J, Briel M, Schmitt A, Perren A, Walter MA. 2017. The prognostic and predictive value ofsstr2-

- immunohistochemistry and sstr2-targeted imaging in neuroendocrine tumors. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 44 (3):468-475.
- Capella C, Heitz PU, Höfler H, Solcia E, Klöppel G. 1995. Revised classification of neuroendocrine tumours of the lung, pancreas and gut. *Virchows Archiv*, 425:547-560.
- Caplin ME, Pavel M, Cwikla JB, Phan AT, Raderer M, Sedlackova E, Cadiot G, Wolin EM, Capdevila J, Wall L, Rindi G, Langley A, Martinez S, Blumberg J, Ruzsniewski P, Investigators C. 2014. Lanreotide in metastatic enteropancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med*, 371 (3):224-233.
- Chensue SW. 2001. Molecular machinations: chemokine signals in host-pathogen interactions. *Clin Microbiol Rev*, 14 (4):821-835.
- Choi YJ, Chang WJ, Shin SW, Park KH, Kim ST, Kim YH. 2016. The prognostic role of serum CXCR4 chemokine receptor type 4 in patients with metastatic or recurrent colorectal cancer. *Onco Targets Ther*, 9:3307-3312.
- Circelli L, Sciammarella C, Guadagno E, Tafuto S, Del Basso de Caro M, Botti G, Pezzullo L, Aria M, Ramundo V, Tatangelo F, Simona Losito N, Ierano C, D'Alterio C, Izzo F, Ciliberto G, Colao A, Faggiano A, Scala S. 2016. CXCR4/CXCL12/CXCR7 axis is functional in neuroendocrine tumors and signals on mTOR. *Oncotarget*.
- Corleto VD, Falconi M, Panzuto F, Milione M, De Luca O, Perri P, Cannizzaro R, Bordi C, Pederzoli P, Scarpa A, Delle Fave G. 2009. Somatostatin receptor subtypes 2 and 5 are associated with better survival in well-differentiated endocrine carcinomas. *Neuroendocrinology*, 89 (2):223-230.
- Debnath B, Xu S, Grande F, Garofalo A, Neamati N. 2013. Small molecule inhibitors of CXCR4. *Theranostics*, 3 (1):47-75.
- de Herder WW, Lamberts SW. 2002. Somatostatin and somatostatin analogues: diagnostic and therapeutic uses. *Curr Opin Oncol*, 14 (1):53-57.
- Demmer O, Gourni E, Schumacher U, Kessler H, Wester HJ. 2011. PET imaging of CXCR4 receptors in cancer by a new optimized ligand. *Chem Med Chem*, 6 (10):1789-1791.
- Deschamps L, Bacha D, Rebours V, Mebarki M, Bretagnol F, Panis Y, Bedossa P, Ruzsniewski P, Couvelard A. 2012. The expression of the hypoxia markers CA9 and CXCR4 is correlated with survival in patients with neuroendocrine tumours of the ileum. *Neuroendocrinology*, 95 (3):214-222.
- Dhall D, Mertens R, Bresee C, Parakh R, Wang HL, Li M, Dhall G, Colquhoun SD, Ines D, Chung F, Yu R, Nissen NN, Wolin E. 2012. Ki-67 proliferative index predicts progression-free survival of patients with well-differentiated ileal neuroendocrine tumors. *Hum Pathol*, 43 (4):489-495.
- Drury LJ, Ziarek JJ, Gravel S, Veldkamp CT, Takekoshi T, Hwang ST, Heveker N, Volkman BF, Dwinell MB. 2011. Monomeric and dimeric CXCL12 inhibit metastasis through distinct CXCR4 interactions and signaling pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108 (43):17655-17660.
- Duan H, Hoffmann M. 2015. Selective internal radiotherapy (SIRT) of liver tumors. *Radiologe*, 55 (1):48-52.
- Dübel S, Rohrbach P, Schmiedl A. 2004. Rekombinante Antikörper: Werkzeuge gegen Krebs, Infektionen und Autoimmunerkrankungen? *Biologie in unserer Zeit*, 34 (6):372-379.
- Eriksson B, Annibale B, Bajetta E, Mitry E, Pavel M, Platania M, Salazar R, Plockinger U, Mallorca Consensus Conference pENT, Society. 2009. ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: chemotherapy in patients with neuroendocrine tumors. *Neuroendocrinology*, 90 (2):214-219.

- Esposito I, Schlitter AM. 2015. Pathologie von neuroendokrinen Neoplasien (NEN) und gastrointestinalen Stromatumoren (GIST). *Der Gastroenterologe*, 10 (5):394-409.
- Estrozi B, Bacchi CE. 2011. Neuroendocrine tumors involving the gastroenteropancreatic tract: a clinicopathological evaluation of 773 cases. *Clinics (Sao Paulo)*, 66 (10):1671-1675.
- Fehmann HC, Arnold R. 1996. Molecular biology, pharmacology and signal transduction of 5 cloned human somatostatin receptors. *Z Gastroenterol*, 34 (11):767-774.
- Ferjoux G, Bousquet C, Cordelier P, Benali N, Lopez F, Rochaix P, Buscail L, Susini C. 2000. Signal transduction of somatostatin receptors negatively controlling cell proliferation. *J Physiol Paris*, 94 (3-4):205-210.
- Fernandez EJ, Lolis E. 2002. Structure, function, and inhibition of chemokines. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 42:469-499.
- Fischer T, Doll C, Jacobs S, Kolodziej A, Stumm R, Schulz S. 2008. Reassessment of sst2 somatostatin receptor expression in human normal and neoplastic tissues using the novel rabbit monoclonal antibody UMB-1. *J Clin Endocrinol Metab*, 93 (11):4519-4524.
- Fottner C, Weber MM. 2012a. Neuroendokrine Neoplasien des Gastrointestinaltrakts. *Internist*, 53:131-144.
- Fottner C, Weber MM. 2012b. Neuroendocrine neoplasms of the gastrointestinal tract. Classification, clinical presentation and diagnosis. *Internist (Berl)*, 53 (2):131-144.
- Furusato B, Mohamed A, Uhlen M, Rhim JS. 2010. CXCR4 and cancer. *Pathol Int*, 60 (7):497-505.
- Gao Y, Li C, Nie M, Lu Y, Lin S, Yuan P, Sun X. 2014. CXCR4 as a novel predictive biomarker for metastasis and poor prognosis in colorectal cancer. *Tumour Biol*, 35 (5):4171-4175.
- Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. 1984. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol*, 133 (4):1710-1715.
- Goetz M, Fottner C, Kiesslich R. 2010. Molecular imaging of the small intestine. *Internist (Berl)*, 51 (6):702-710.
- Gourni E, Demmer O, Schottelius M, D'Alessandria C, Schulz S, Dijkgraaf I, Schumacher U, Schwaiger M, Kessler H, Wester HJ. 2011. PET of CXCR4 expression by a (68)Ga-labeled highly specific targeted contrast agent. *J Nucl Med*, 52 (11):1803-1810.
- Grabowski P, Horsch D. 2015. Guidelines for gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors - what is new? What should be incorporated in daily therapeutic decisions? *Z Gastroenterol*, 53 (10):1194-1200.
- Haberle L, Braren R, Schlitter AM, Esposito I. 2015. Metastasis of pancreatic tumors. *Pathologe*, 36 Suppl 2:176-180.
- Haug AR, Bartenstein P. 2011. Peptidradiorezeptorthherapie neuroendokriner Tumoren. *Der Onkologe*, 17 (7):602-608.
- Haug AR, Bartenstein P. 2012. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors: diagnosis and therapy in nuclear medicine. *Internist (Berl)*, 53 (2):161-166.
- He H, Wang C, Shen Z, Fang Y, Wang X, Chen W, Liu F, Qin X, Sun Y. 2013. Upregulated expression of C-X-C chemokine receptor 4 is an independent prognostic predictor for patients with gastric cancer. *PLoS One*, 8 (8):e71864.
- Helboe L, Moller M, Norregaard L, Schiodt M, Stidsen CE. 1997. Development of selective antibodies against the human somatostatin receptor subtypes sst1-sst5. *Brain Res Mol Brain Res*, 49 (1-2):82-88.

- Hiller DJ, Meschonat C, Kim R, Li BD, Chu QD. 2011. Chemokine receptor CXCR4 level in primary tumors independently predicts outcome for patients with locally advanced breast cancer. *Surgery*, 150 (3):459-465.
- Hofland LJ, Lamberts SW. 2003. The pathophysiological consequences of somatostatin receptor internalization and resistance. *Endocr Rev*, 24 (1):28-47.
- Holzapfel K, Eiber M, Rummeny EJ. 2015. Bildgebende Diagnostik gastrointestinaler Tumoren. *Der Gastroenterologe*, 10 (5):382-393.
- Jakobs TF, Hoffmann RT, Tatsch K, Trumm C, Reiser MF. 2008. Therapy response of liver tumors after selective internal radiation therapy. *Radiologe*, 48 (9):839-849.
- Janson ET, Holmberg L, Stridsberg M, Eriksson B, Theodorsson E, Wilander E, Oberg K. 1997. Carcinoid tumors: analysis of prognostic factors and survival in 301 patients from a referral center. *Ann Oncol*, 8 (7):685-690.
- Kaemmerer D, Specht E, Sanger J, Wirtz RM, Sayeg M, Schulz S, Lupp A. 2015a. Somatostatin receptors in bronchopulmonary neuroendocrine neoplasms: new diagnostic, prognostic, and therapeutic markers. *J Clin Endocrinol Metab*, 100 (3):831-840.
- Kaemmerer D, Träger T, Hoffmeister M, Sipos B, Hommann M, Sanger J, Schulz S, Lupp A. 2015b. Inverse expression of somatostatin and CXCR4 chemokine receptors in gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms of different malignancy. *Oncotarget*, 6 (29):27566-27579.
- Kaemmerer D, Wirtz RM, Fischer EK, Hommann M, Sanger J, Prasad V, Specht E, Baum RP, Schulz S, Lupp A. 2015c. Analysis of somatostatin receptor 2A immunohistochemistry, RT-qPCR, and in vivo PET/CT data in patients with pancreatic neuroendocrine neoplasm. *Pancreas*, 44 (4):648-654.
- Kaudel CP, Watzka FM, Musholt TJ. 2011. Chirurgische Therapie gastroenteropankreatischer neuroendokriner Neoplasien. *Der Onkologe*, 17 (7):609-620.
- Kennedy A, Bester L, Salem R, Sharma RA, Parks RW, Ruszniewski P, Conference NE-L-MC. 2015. Role of hepatic intra-arterial therapies in metastatic neuroendocrine tumours (NET): guidelines from the NET-Liver-Metastases Consensus Conference. *HPB (Oxford)*, 17 (1):29-37.
- Klöppel G. 2003. Neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract. *Pathologe*, 24 (4):287-296.
- Klöppel G, Couvelard A, Perren A, Komminoth P, McNicol AM, Nilsson O, Scarpa A, Scoazec JY, Wiedenmann B, Papotti M, Rindi G, Plockinger U, Mallorca Consensus Conference pENT, Society. 2009. ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: towards a standardized approach to the diagnosis of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors and their prognostic stratification. *Neuroendocrinology*, 90 (2):162-166.
- Klöppel G, Scherübl H. 2011. Neuroendocrine neoplasms of the appendix and colorectum. *Pathologe*, 32 (4):314-320.
- Klöppel G. 2015. Neoplasms of the disseminated neuroendocrine cell system of the gastrointestinal tract. *Pathologe*, 36 (3):237-245.
- Kress O, Klose KJ, Wagner HJ. 2004. Lokal-ablative Therapieverfahren neuroendokriner Lebermetastasen. *Der Onkologe*, 10 (10):1079-1091.
- Krieg A, Riemer JC, Telan LA, Gabbert HE, Knoefel WT. 2015. CXCR4--A Prognostic and Clinicopathological Biomarker for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Meta-Analysis. *PLoS One*, 10 (6):e0130192.
- Kulaksiz H, Eissele R, Rossler D, Schulz S, Holtt V, Cetin Y, Arnold R. 2002. Identification of somatostatin receptor subtypes 1, 2A, 3, and 5 in neuroendocrine tumours with subtype specific antibodies. *Gut*, 50 (1):52-60.

- Kwekkeboom DJ, Krenning EP, Lebtahi R, Komminoth P, Kos-Kudla B, de Herder WW, Plockinger U, Mallorca Consensus Conference pENT, Society. 2009. ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: peptide receptor radionuclide therapy with radiolabeled somatostatin analogs. *Neuroendocrinology*, 90 (2):220-226.
- Lapa C, Luckerath K, Rudelius M, Schmid JS, Schoene A, Schirbel A, Samnick S, Pelzer T, Buck AK, Kropf S, Wester HJ, Herrmann K. 2016. [68Ga]Pentixafor-PET/CT for imaging of chemokine receptor 4 expression in small cell lung cancer - initial experience. *Oncotarget*, 7 (8):9288-9295.
- Libicher M, Bovenschulte H. 2009. Arterial embolization of hepatic metastases from neuroendocrine tumors. *Radiologe*, 49 (3):233-241.
- Lupp A, Hunder A, Petrich A, Nagel F, Doll C, Schulz S. 2011. Reassessment of sst(5) somatostatin receptor expression in normal and neoplastic human tissues using the novel rabbit monoclonal antibody UMB-4. *Neuroendocrinology*, 94 (3):255-264.
- Maasberg S, Denecke T, Pascher A, Pape U-F. 2012. Neuroendokrine Neoplasien des gastroentero-pankreatischen Systems. *Der Onkologe*, 18 (7):627-642.
- Maroun J, Kocha W, Kvols L, Bjarnason G, Chen E, Germond C, Hanna S, Poitras P, Rayson D, Reid R, Rivera J, Roy A, Shah A, Sideris L, Siu L, Wong R. 2006. Guidelines for the diagnosis and management of carcinoid tumours. Part 1: the gastrointestinal tract. A statement from a Canadian National Carcinoid Expert Group. *Curr Oncol*, 13 (2):67-76.
- Mehta S, de Reuver PR, Gill P, Andrici J, D'Urso L, Mittal A, Pavlakis N, Clarke S, Samra JS, Gill AJ. 2015. Somatostatin Receptor SSTR-2a Expression Is a Stronger Predictor for Survival Than Ki-67 in Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Medicine*, 94 (40):e1281.
- Mizutani G, Nakanishi Y, Watanabe N, Honma T, Obana Y, Seki T, Ohni S, Nemoto N. 2012. Expression of Somatostatin Receptor (SSTR) Subtypes (SSTR-1, 2A, 3, 4 and 5) in Neuroendocrine Tumors Using Real-time RT-PCR Method and Immunohistochemistry. *Acta Histochem Cytochem*, 45 (3):167-176.
- Modlin IM, Lye KD, Kidd M. 2003. A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors. *Cancer*, 97 (4):934-959.
- Modlin IM, Kidd M, Latich I, Zikusoka MN, Shapiro MD. 2005. Current status of gastrointestinal carcinoids. *Gastroenterology*, 128 (6):1717-1751.
- Modlin IM, Oberg K, Chung DC, Jensen RT, de Herder WW, Thakker RV, Caplin M, Delle Fave G, Kaltsas GA, Krenning EP, Moss SF, Nilsson O, Rindi G, Salazar R, Ruszniewski P, Sundin A. 2008. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Lancet Oncol*, 9 (1):61-72.
- Modrow S, Falke D, Truyen U, Schätzl H. 2010. Molekulare Virologie.
- Muders MH, Baretton GB. 2015. The metastatic niche. Mechanisms and prognostic implications. *Pathologe*, 36 Suppl 2:185-188.
- Müller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, McClanahan T, Murphy E, Yuan W, Wagner SN, Barrera JL, Mohar A, Verastegui E, Zlotnik A. 2001. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature*, 410 (6824):50-56.
- Mundschenk J, Unger N, Schulz S, Holtt V, Schulz S, Steinke R, Lehnert H. 2003. Somatostatin receptor subtypes in human pheochromocytoma: subcellular expression pattern and functional relevance for octreotide scintigraphy. *J Clin Endocrinol Metab*, 88 (11):5150-5157.
- Musholt TJ. 2011. Extent of resection for neuroendocrine tumors of the small intestine. *Chirurg*, 82 (7):591-597.

- Musholt TJ, Watzka FM. 2015. Neuroendokrine Neoplasien des gastroenteropankreatischen Systems. *Der Gastroenterologe*, 10 (5):410-417.
- Nasir A, Stridsberg M, Strosberg J, Su PH, Livingston S, Malik HA, Kelley ST, Centeno BA, Coppola D, Malafa ME, Yeatman TJ, Kvols LK. 2006. Somatostatin receptor profiling in hepatic metastases from small intestinal and pancreatic neuroendocrine neoplasms: immunohistochemical approach with potential clinical utility. *Cancer Control*, 13 (1):52-60.
- Noe S, Mayr M, Scheidhauer K, Neu B, Schmid RM. 2011. Klinik und Diagnostik neuroendokriner Neoplasien. *Der Onkologe*, 17 (7):583-591.
- Noe S, Neu B. 2015. Gastroenteropankreatische neuroendokrine Neoplasien (GEP-NEN). *Der Gastroenterologe*, 10 (5):418-421.
- Oberndorfer S. 1907. Karzinoide Tumoren des Dünndarms. *Frankf Z Pathol*, 1:426-432.
- Okuwaki K, Kida M, Mikami T, Yamauchi H, Imaizumi H, Miyazawa S, Iwai T, Takezawa M, Saegusa M, Watanabe M, Koizumi W. 2013. Clinicopathologic characteristics of pancreatic neuroendocrine tumors and relation of somatostatin receptor type 2A to outcomes. *Cancer*, 119 (23):4094-4102.
- Pape UF, Bohmig M, Berndt U, Tiling N, Wiedenmann B, Plockinger U. 2004. Survival and clinical outcome of patients with neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic tract in a german referral center. *Ann N Y Acad Sci*, 1014:222-233.
- Pape UF, Berndt U, Muller-Nordhorn J, Bohmig M, Roll S, Koch M, Willich SN, Wiedenmann B. 2008a. Prognostic factors of long-term outcome in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Endocr Relat Cancer*, 15 (4):1083-1097.
- Pape UF, Jann H, Muller-Nordhorn J, Bockelbrink A, Berndt U, Willich SN, Koch M, Rocken C, Rindi G, Wiedenmann B. 2008b. Prognostic relevance of a novel TNM classification system for upper gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Cancer*, 113 (2):256-265.
- Papotti M, Bongiovanni M, Volante M, Allia E, Landolfi S, Helboe L, Schindler M, Cole SL, Bussolati G. 2002. Expression of somatostatin receptor types 1-5 in 81 cases of gastrointestinal and pancreatic endocrine tumors. A correlative immunohistochemical and reverse-transcriptase polymerase chain reaction analysis. *Virchows Arch*, 440 (5):461-475.
- Patel YC. 1999. Somatostatin and its receptor family. *Front Neuroendocrinol*, 20 (3):157-198.
- Pavel M. 2011. Medizinische Therapie und Chemotherapie von neuroendokrinen Tumoren. *Der Onkologe*, 17 (7):592-601.
- Pavel M, Baudin E, Couvelard A, Krenning E, Oberg K, Steinmuller T, Anlauf M, Wiedenmann B, Salazar R, participants BCC. 2012. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with liver and other distant metastases from neuroendocrine neoplasms of foregut, midgut, hindgut, and unknown primary. *Neuroendocrinology*, 95 (2):157-176.
- Perren A, Schmitt A, Komminoth P, Anlauf M, Klöppel G. 2010. Klassifikation und Pathologie gastroenteropankreatischer neuroendokriner Tumoren. *Viszeralmedizin*, 26 (4):234-240.
- Pigorsch SU, Molls M, Grosu AL. 2004. Strahlentherapie neuroendokriner Tumoren. *Der Onkologe*, 10 (10):1092-1097.
- Pinchot SN, Holen K, Sippel RS, Chen H. 2008. Carcinoid tumors. *Oncologist*, 13 (12):1255-1269.

- Plöckinger U, Wiedenmann B. 2004. Biotherapie neuroendokriner gastrointestinaler Tumoren. *Der Onkologe*, 10 (6):611-620.
- Prasad V, Fetscher S, Baum RP. 2007. Changing role of somatostatin receptor targeted drugs in NET: Nuclear Medicine's view. *J Pharm Pharm Sci*, 10 (2):321s-337s.
- Qian ZR, Li T, Ter-Minassian M, Yang J, Chan JA, Brais LK, Masugi Y, Thiaglingam A, Brooks N, Nishihara R, Bonnemarie M, Masuda A, Inamura K, Kim SA, Mima K, Sukawa Y, Dou R, Lin X, Christiani DC, Schmidlin F, Fuchs CS, Mahmood U, Ogino S, Kulke MH. 2016. Association Between Somatostatin Receptor Expression and Clinical Outcomes in Neuroendocrine Tumors. *Pancreas*, 45 (10):1386-1393.
- Reisine T, Bell GI. 1995. Molecular properties of somatostatin receptors. *Neuroscience*, 67 (4):777-790.
- Reubi JC, Kvols L, Krenning E, Lamberts SW. 1991. In vitro and in vivo detection of somatostatin receptors in human malignant tissues. *Acta Oncol*, 30 (4):463-468.
- Reubi JC. 1992. Somatostatin receptors in the gastrointestinal tract in health and disease. *Yale J Biol Med*, 65 (5):493-503; discussion 531-496.
- Reubi JC, Laissue J, Krenning E, Lamberts SW. 1992. Somatostatin receptors in human cancer: incidence, characteristics, functional correlates and clinical implications. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 43 (1-3):27-35.
- Reubi JC, Schaer JC, Waser B, Mengod G. 1994a. Expression and localization of somatostatin receptor SSTR1, SSTR2, and SSTR3 messenger RNAs in primary human tumors using in situ hybridization. *Cancer Res*, 54 (13):3455-3459.
- Reubi JC, Laissue J, Waser B, Horisberger U, Schaer JC. 1994b. Expression of somatostatin receptors in normal, inflamed, and neoplastic human gastrointestinal tissues. *Ann N Y Acad Sci*, 733:122-137.
- Reubi JC. 2003. Peptide receptors as molecular targets for cancer diagnosis and therapy. *Endocr Rev*, 24 (4):389-427.
- Reubi JC, Waser B. 2003. Concomitant expression of several peptide receptors in neuroendocrine tumours: molecular basis for in vivo multireceptor tumour targeting. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 30 (5):781-793.
- Reubi JC. 2004. Somatostatin and other peptide receptors as tools for tumor diagnosis and treatment. *Neuroendocrinology*, 80 Suppl 1:51-56.
- Reubi JC. 2007. Peptide receptor expression in GEP-NET. *Virchows Arch*, 451 Suppl 1:S47-50.
- Rindi G, Kloppel G, Alhman H, Caplin M, Couvelard A, de Herder WW, Eriksson B, Falchetti A, Falconi M, Komminoth P, Korner M, Lopes JM, McNicol AM, Nilsson O, Perren A, Scarpa A, Scoazec JY, Wiedenmann B, Society aoFCCpENT. 2006. TNM staging of foregut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch*, 449 (4):395-401.
- Rindi G, Kloppel G, Couvelard A, Komminoth P, Korner M, Lopes JM, McNicol AM, Nilsson O, Perren A, Scarpa A, Scoazec JY, Wiedenmann B. 2007. TNM staging of midgut and hindgut (neuro) endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch*, 451 (4):757-762.
- Rink L, Kruse A, Haase H. 2012. *Immunologie für Einsteiger*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- Rinke A, Muller HH, Schade-Brittinger C, Klose KJ, Barth P, Wied M, Mayer C, Aminossadati B, Pape UF, Blaker M, Harder J, Arnold C, Gress T, Arnold R, Group PS. 2009. Placebo-controlled, double-blind, prospective, randomized study on the effect of octreotide LAR in the control of tumor growth in patients with metastatic neuroendocrine

- midgut tumors: a report from the PROMID Study Group. *J Clin Oncol*, 27 (28):4656-4663.
- Robbins RJ. 1996. Somatostatin and cancer. *Metabolism*, 45 (8 Suppl 1):98-100.
- Rolleman EJ, Valkema R, de Jong M, Kooij PP, Krenning EP. 2003. Safe and effective inhibition of renal uptake of radiolabelled octreotide by a combination of lysine and arginine. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 30 (1):9-15.
- Rossi D, Zlotnik A. 2000. The biology of chemokines and their receptors. *Annu Rev Immunol*, 18:217-242.
- Sayeg Y, Sayeg M, Baum R, Kulkarni H, Presselt N, Mäder I, Kunze A, Sängler J, Hörsch D, Bonnet R. 2014. Neuroendokrine Neoplasien der Lunge. *Pneumologie*, 68 (07):456-477.
- Scherübl H, Faiss S, Zeitz M. 2003. Neuroendokrine Tumoren des Gastrointestinaltraktes: Diagnostik und Therapie. *Dtsch Med Wochenschr*, 128:81-83.
- Schindl M, Niederle B, Hafner M, Teleky B, Langle F, Kaserer K, Schofl R. 1998. Stage-dependent therapy of rectal carcinoid tumors. *World J Surg*, 22 (6):628-633; discussion 634.
- Schindl M, Kaczirek K, Passler C, Kaserer K, Prager G, Scheuba C, Raderer M, Niederle B. 2002. Treatment of small intestinal neuroendocrine tumors: is an extended multimodal approach justified? *World J Surg*, 26 (8):976-984.
- Schmid HA, Lambertini C, van Vugt HH, Barzaghi-Rinaudo P, Schafer J, Hillenbrand R, Sailer AW, Kaufmann M, Nuciforo P. 2012. Monoclonal antibodies against the human somatostatin receptor subtypes 1-5: development and immunohistochemical application in neuroendocrine tumors. *Neuroendocrinology*, 95 (3):232-247.
- Schmitz F. 2014. Wirksamkeit von Lanreotid bei metastasiertem neuroendokrinen Tumor des Gastrointestinaltrakts. *Der Gastroenterologe*, 9 (5):470-472.
- Scholzen T, Gerdes J. 2000. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol*, 182 (3):311-322.
- Schonbrunn A, Tashjian HJ. 1978. Characterization of functional receptors for somatostatin in rat pituitary cells in culture. *The Journal of Biological Chemistry*, 253(18):6473-6483.
- Seibt BF. 2012. A2B-Adenosin-Rezeptor-Homo- und Heterodimere Biolumineszenz-Resonanz-Energie-Transfer-Studien und pharmakologische Charakterisierung [Dissertation]. Bonn: Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität.
- Shi SR, Key ME, Kalra KL. 1991. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J Histochem Cytochem*, 39 (6):741-748.
- Signoret N, Rosenkilde MM, Klasse PJ, Schwartz TW, Malim MH, Hoxie JA, Marsh M. 1998. Differential regulation of CXCR4 and CCR5 endocytosis. *J Cell Sci*, 111 (Pt 18):2819-2830.
- Simon B. 2005. Therapie neuroendokriner gastroenteropankreatischer (GEP) Tumoren In: Caspary W, Mössner J, Stein, J: Therapie gastroenterologischer Krankheiten. Kap. 12, 103-110. Heidelberg: Springer Verlag.
- Soga J, Tazawa K. 1971. Pathologic analysis of carcinoids – histologic reevaluation of 62 cases. *Cancer*, 28 (4):990-998.
- Song KB, Kim SC, Kim JH, Seo DW, Hong SM, Park KM, Hwang DW, Lee JH, Lee YJ. 2016. Prognostic Value of Somatostatin Receptor Subtypes in Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Pancreas*, 45 (2):187-192.

- Soreide JA, van Heerden JA, Thompson GB, Schleck C, Ilstrup DM, Churchward M. 2000. Gastrointestinal carcinoid tumors: long-term prognosis for surgically treated patients. *World J Surg*, 24 (11):1431-1436.
- Specht E, Kaemmerer D, Sanger J, Wirtz RM, Schulz S, Lupp A. 2015. Comparison of immunoreactive score, HER2/neu score and H score for the immunohistochemical evaluation of somatostatin receptors in bronchopulmonary neuroendocrine neoplasms. *Histopathology*, 67 (3):368-377.
- Spitzweg C, Göke B. 2002. Therapie endokriner gastrointestinaler Tumoren. *Internist (Berl)*, 43 (2):219-229.
- Strosberg J, Wolin E, Chasen B, Kulke M, Bushnell D, Caplin M, Baum R, Mittra E, Hobday T, Hendifar A, Oberg K, Sierra ML, Kwekkeboom D, Ruzsniwski P, Krenning E. 2016. NETTER-1 Phase III in Patients With Midgut Neuroendocrine Tumors Treated With 177Lu-DOTATATE: Efficacy and Safety Results. *The Journal of Nuclear Medicine*, 57:629.
- Strosberg JR, Fine RL, Choi J, Nasir A, Coppola D, Chen DT, Helm J, Kvols L. 2011. First-line chemotherapy with capecitabine and temozolomide in patients with metastatic pancreatic endocrine carcinomas. *Cancer*, 117 (2):268-275.
- Sun X, Cheng G, Hao M, Zheng J, Zhou X, Zhang J, Taichman RS, Pienta KJ, Wang J. 2010. CXCL12 / CXCR4 / CXCR7 chemokine axis and cancer progression. *Cancer Metastasis Rev*, 29 (4):709-722.
- Sundin A. 2012. Radiological and nuclear medicine imaging of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 26 (6):803-818.
- Taniyama Y, Suzuki T, Mikami Y, Moriya T, Satomi S, Sasano H. 2005. Systemic distribution of somatostatin receptor subtypes in human: an immunohistochemical study. *Endocr J*, 52 (5):605-611.
- Teicher BA, Fricker SP. 2010. CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 pathway in cancer. *Clin Cancer Res*, 16 (11):2927-2931.
- Ter-Minassian M, Chan JA, Hooshmand SM, Brais LK, Daskalova A, Heafield R, Buchanan L, Qian ZR, Fuchs CS, Lin X, Christiani DC, Kulke MH. 2013. Clinical presentation, recurrence, and survival in patients with neuroendocrine tumors: results from a prospective institutional database. *Endocr Relat Cancer*, 20 (2):187-196.
- Tiling N, Ricke J, Wiedenmann B. 2002. Neuroendocrine tumors of the gastrointestinal-pancreatic system. Classification and diagnosis. *Internist (Berl)*, 43 (2):210-218.
- Van Gompel JJ, Sippel RS, Warner TF, Chen H. 2004. Gastrointestinal carcinoid tumors: factors that predict outcome. *World J Surg*, 28 (4):387-392.
- Vick C, Zech CJ, Hopfner S, Waggenshauser T, Reiser M. 2003. Imaging of neuroendocrine tumors of the pancreas. *Radiologe*, 43 (4):293-300.
- Wald O, Shapira OM, Izhar U. 2013. CXCR4/CXCL12 axis in non small cell lung cancer (NSCLC) pathologic roles and therapeutic potential. *Theranostics*, 3 (1):26-33.
- Werner RA, Weich A, Higuchi T, Schmid JS, Schirbel A, Lassmann M, Wild V, Rudelius M, Kudlich T, Herrmann K, Scheurlen M, Buck AK, Kropf S, Wester HJ, Lapa C. 2017. Imaging of Chemokine Receptor 4 Expression in Neuroendocrine Tumors - a Triple Tracer Comparative Approach. *Theranostics*, 7 (6):1489-1498.
- Wester HJ, Keller U, Schottelius M, Beer A, Philipp-Abbrederis K, Hoffmann F, Simecek J, Gerngross C, Lassmann M, Herrmann K, Pellegata N, Rudelius M, Kessler H, Schwaiger M. 2015. Disclosing the CXCR4 expression in lymphoproliferative diseases by targeted molecular imaging. *Theranostics*, 5 (6):618-630.

- Williams ED, Sandler M. 1963. The classification of carcinoid tumours. *Lancet*, 1 (7275):238-239.
- Wong D, Korz W. 2008. Translating an antagonist of chemokine receptor CXCR4: from bench to bedside. *Clin Cancer Res*, 14 (24):7975-7980.
- Wu W, Cao J, Ji Z, Wang J, Jiang T, Ding H. 2016. Co-expression of Lgr5 and CXCR4 characterizes cancer stem-like cells of colorectal cancer. *Oncotarget*.
- Yerci O, Sehitoglu I, Ugras N, Cubukcu E, Yuce S, Bedir R, Cure E. 2015. Somatostatin Receptor 2 and 5 Expressions in Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors in Turkey. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16 (10):4377-4381.
- Yildiz O, Ozguroglu M, Yanmaz T, Turna H, Serdengeçti S, Dogusoy G. 2010. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors: 10-year experience in a single center. *Med Oncol*, 27 (4):1050-1056.
- Zamora V, Cabanne A, Salanova R, Bestani C, Domenichini E, Marmissole F, Giacomini N, O'Connor J, Mendez G, Roca E, Buenos A, La Plata Argentina Argentum Working G. 2010. Immunohistochemical expression of somatostatin receptors in digestive endocrine tumours. *Dig Liver Dis*, 42 (3):220-225.
- Zen Y, Heaton N. 2013. Elevated Ki-67 labeling index in 'synchronous liver metastases' of well differentiated enteropancreatic neuroendocrine tumor. *Pathol Int*, 63 (11):532-538.
- Zhang Z, Ni C, Chen W, Wu P, Wang Z, Yin J, Huang J, Qiu F. 2014. Expression of CXCR4 and breast cancer prognosis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer*, 14:49.

Anhang

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Frau apl. Prof. Dr. Amelie Lupp, Herr PD Dr. med. Daniel Kämmerer,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen besonderen Dank nachstehenden Personen entgegen bringen, ohne deren Mithilfe die Anfertigung dieser Promotionsschrift niemals zustande gekommen wäre:

Besonders danken möchte ich Frau apl. Prof. Dr. med. Amelie Lupp für die Vergabe des interessanten Themas, die fundierte fachliche Betreuung und die wissenschaftlichen Anregungen und Diskussionen, die zum Gelingen dieser Arbeit entscheidend beigetragen haben. Ich danke ihr für ihre unermüdliche Geduld sowie ihr außergewöhnliches und herzliches Engagement, mit welchem Sie mich über die gesamte Zeit begleitet und motiviert hat.

Ein weiteres großes Danke gilt Herrn PD Dr. med. Daniel Kämmerer, der jederzeit für alle meine Fragestellungen ein offenes Ohr hatte und mich vor allem beim klinischen Teil sehr unterstützt hat.

Ebenso danke ich den Mitarbeitern des Labors für Pathologie und Zytologie in Bad Berka, und speziell Dr. rer. nat. Jörg Sängler, für die Bereitstellung der Tumorproben.

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die es mir durch ihre Unterstützung ermöglicht haben, Medizin zu studieren und damit auch die vorliegende Dissertation zu erstellen.

Veröffentlichungen

Publikation

Kaemmerer D, Träger T, Hoffmeister M, Sipos B, Hommann M, Sanger J, Schulz S, Lupp A. 2015b. Inverse expression of somatostatin and CXCR4 chemokine receptors in gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms of different malignancy. *Oncotarget*, 6 (29):27566-27579.